

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA DENGUE

par GEORGES BLANC et J. CAMINOPETROS.

(Institut Pasteur Hellénique.)

A l'automne de 1927, la dengue fit son apparition à Athènes ; il y eut quelques foyers constitués qui, peu à peu, tendaient à s'étendre lorsque les premiers froids arrêterent entièrement l'épidémie. En 1928, la dengue réapparut, mais cette fois son extension fut très rapide et, dès le mois de juillet, on pouvait parler d'une pandémie à Athènes et constater de nombreux foyers en Grèce, en particulier dans les ports. Dès la première apparition de la dengue, en 1927, nous avons pu faire quelques expériences que nous avons poursuivies pendant l'hiver et qui ont porté sur la durée de conservation du virus au laboratoire et sur sa transmission à l'homme et à quelques animaux de laboratoire. Les faits nouveaux que nous avons pu apporter peuvent se résumer ainsi :

1^o Le sérum de malade atteint de dengue, conservé à l'obscurité, en tubes scellés, à la température du laboratoire (15-18° C), peut garder sa virulence au moins cinquante-quatre jours.

2^o L'homme peut être atteint de dengue inapparente, qui lui

confère l'immunité ; au cours de cette maladie inapparente son sang est virulent.

3° Le cobaye inoculé avec du sang de malade atteint de dengue ne fait pas de maladie fébrile. Il peut contracter une dengue inapparente, son sang devient virulent cinq jours après l'inoculation.

Lorsque la dengue fit son apparition, pendant l'été de l'année 1928, sous la forme catastrophique que l'on connaît, nous reprîmes l'étude de la maladie en élargissant notre domaine expérimental : tout en étudiant les propriétés du virus de la dengue, celles du sérum de malade et de convalescent, nous continuâmes nos essais de transmission aux animaux de laboratoire et nous nous appliquâmes à suivre, de façon aussi précise et aussi continue que possible, le comportement du virus dans l'organisme des moustiques. Enfin, nous essayâmes de résoudre le problème de la vaccination. Les résultats obtenus à la suite de ces recherches ont été donnés brièvement dans divers périodiques scientifiques. Il nous semble utile, maintenant, de les réunir et de les exposer de façon plus méthodique et plus détaillée.

CHAPITRE PREMIER

LA TRANSMISSION DE LA DENGUE PAR LES INSECTES PIQUEURS

Graham, le premier, a nettement posé la question de la transmission de la dengue par les moustiques et a cherché à y répondre par des expériences. A titre documentaire, on peut rappeler que Benjamin Rush avait remarqué, dès 1780, lors d'une épidémie de dengue à Philadelphie pendant l'été et l'automne, une quantité exceptionnelle de moustiques dans la ville, et l'on peut noter aussi que plusieurs auteurs avaient remarqué que les premiers froids faisaient cesser les épidémies de dengue.

EXPÉRIENCES DE GRAHAM. — Il est utile, croyons-nous, d'insister sur les expériences de Graham, parce qu'elles sont les premières qui ont été faites pour résoudre le problème de la

transmission de la dengue et aussi parce que les travaux de cet auteur, plus souvent cités, peut-être, que lus, ont contribué à rendre classique l'opinion que les *Culex*, plus particulièrement le *Culex fatigans*, jouent un rôle important dans la transmission de la dengue. Rôle que de nombreuses expériences ultérieures n'ont pas confirmé et que même les propres expériences de Graham ne rendent nullement évident.

Graham observe, en 1903, une épidémie de dengue en Syrie (Beyrouth), et note que les moustiques, *Culex* (*fatigans*?) et *Stegomyia fasciata* (*Aedes Aegypti*), abondent dans la ville. Avec un sens d'observation remarquable, il pense que ce sont les moustiques qui doivent transmettre la dengue.

Pour démontrer son hypothèse il commence par mettre un certain nombre de personnes à l'abri de toute piqûre de moustiques, dans des maisons où sont des malades atteints de dengue. Il constate qu'aucune de ces personnes ne contracte la maladie. Ensuite Graham fait l'expérience inverse. Il expose à la piqûre de moustiques, provenant de la chambre d'un malade, des volontaires et constate qu'ils contractent l'infection. Voici ce qu'il écrit : « Quatre hommes furent choisis qui habitaient des maisons où aucun cas de dengue ne s'était encore déclaré. Plusieurs *moustiques* furent pris dans la moustiquaire d'un malade atteint de dengue et placés dans celle du candidat à la maladie qui dormit ainsi plusieurs nuits consécutives avec les moustiques dans sa moustiquaire. Dans un des cas, le premier frisson survint cinq jours après l'introduction des moustiques ; six jours après dans le second et quatre jours dans le troisième. Dans le quatrième cas, aucun symptôme n'étant apparu avant la fin d'une semaine, un autre lot de moustiques infectés fut introduit, sans résultat (ce dernier sujet avait l'immunité contre la dengue).

Ensuite Graham voulant répondre à l'objection qui pourrait lui être faite que, dans une ville où règne une épidémie de dengue, il est possible que les sujets mis en expérience aient contracté la maladie sans que les moustiques fussent en cause, fait la nouvelle expérience suivante : « Des *moustiques* furent pris dans la chambre d'un malade atteint de dengue et transportés dans un village de la montagne où aucun cas de dengue ne s'était encore déclaré.

« Après la visite faite aux malades pour prendre les moustiques infectés (dit Graham), j'avais changé de vêtements et pris un bain avant de monter à cheval pour faire l'ascension de la montagne. Dans ce village, à trois mille pieds environ au-dessus de la mer, il n'y avait pour ainsi dire pas de moustiques. C'est un climat sec et très sain. Je trouvai aisément deux jeunes gens, dans deux endroits différents du village, qui consentirent à courir leur chance d'avoir la dengue. L'un d'eux, après avoir couché quatre nuits sous une moustiquaire avec les moustiques, fut pris d'une sévère et typique attaque de dengue. L'autre eut son premier accès de fièvre après avoir passé cinq nuits en compagnie des moustiques... A part ces cas expérimentaux, il n'y eut pas d'autres cas de dengue dans le village. »

Graham rapporte enfin l'observation suivante :

« M^{me} Graham entreprit un jour de me procurer un *moustique* d'une des cages et, pendant qu'elle tenait le flacon sur le *moustique*, pour le prendre, elle ne s'aperçut que trop tard qu'elle avait été piquée par un autre *moustique*. Trois jours plus tard elle dut s'aliter, prise de nausées, de vomissements et d'une forte fièvre. La maladie s'affirma comme une dengue typique. C'était sa première attaque de dengue; il n'y eut aucun autre cas dans la maison durant tout l'été et elle n'avait été nulle part ailleurs exposée à prendre cette maladie. Les *moustiques*, dans cette cage, avaient été gorgés de sang de malades quinze jours avant le moment où elle avait été piquée. »

Les expériences et observations de Graham sont fort intéressantes et ne laissent guère place au doute. Ce sont bien les moustiques qui transmettent la dengue. Mais quels moustiques? *Culex* ou *Stegomyia*? Siler, Hall et Hitschens, avec juste raison, font remarquer que Graham parle dans ses expériences de *moustiques* sans spécifier à quelle espèce ils appartiennent. Il est donc fort probable, étant donné ce que nous ont appris les expériences ultérieures, que Graham a utilisé des *Stegomyia* mélangées aux *Culex* et que les conclusions qu'il a tirées, justes en elles-mêmes, sont erronées lorsqu'il les applique au *Culex* et plus particulièrement au *Culex fatigans*.

Si l'on est en droit de penser que Graham a opéré avec des *Stegomyia* en même temps qu'avec des *Culex*, on peut ajouter

également que les *Culex* en question n'appartenaient pas à l'espèce *Culex fatigans*, mais bien probablement à l'espèce *Culex pipiens*.

On sait, en effet, qu'il est très difficile de distinguer *Culex fatigans* de *Culex pipiens*. *C. fatigans* est parfois un peu plus sombre que *C. pipiens*, le pétiole de la première fourche alaire est plus long et les palpes sont peut-être un peu plus velues chez le ♂ de *C. fatigans*. Seule, la structure profonde de l'appareil génital permet de distinguer les deux espèces l'une de l'autre.

Il n'apparaît nullement, dans le travail de Graham, que l'auteur ait poussé de façon aussi détaillée la détermination de l'espèce avec laquelle il expérimentait. Ajoutons que *Culex fatigans*, d'après E. Seguy, n'a pas été signalé en Syrie, mais seulement en basse Mésopotamie et en Perse orientale. Différents exemplaires, provenant de diverses régions et étudiés par Seguy, ont été reconnus par lui comme étant des *C. pipiens*. La confusion entre les deux espèces est donc fréquente.

Après Graham, quelques auteurs, Carpenter et Sutton (1905), Bancroft (1906), Guiteras et Cartaya (1906), Agramonte (1906), font divers essais de transmission de la dengue par les moustiques sans apporter de fait nouveau. Ashburn et Craig, en 1907, reprennent les expériences de Graham et cherchent à démontrer le rôle du *Culex fatigans* dans la transmission de la dengue. Leurs expériences ne sont pas concluantes.

En 1916, 1918 et 1919, Cleland, Bradley et Mc Donald, étudiant en Australie une épidémie de dengue, établissent expérimentalement le rôle de *Stegomyia fasciata*. Déjà, en 1908, O'Brien, se basant sur ses observations cliniques, incriminait *Stegomyia notoscripta* comme vecteur de la maladie et Legendre, en 1910, également sur ses observations épidémiologiques, attribuait le même rôle à *Stegomyia fasciata*.

Cleland, Bradley et Mac Donald n'obtenaient aucun résultat en opérant avec *Culex fatigans*.

Chandler et Rice, en 1923, observent une épidémie de dengue au Texas et font d'intéressantes expériences. Ils réussissent à transmettre la maladie par piqure de *Stégomyies* infectés sur des malades.

Enfin, Siler, Hall et Hitchens, en 1924, 1925, 1926, étudient aux

Philippines, de façon magistrale, le mode de transmission de la dengue. Ils établissent, par des expériences faites sur 64 soldats volontaires, avec toute la rigueur désirable, que seul *Stegomyia fasciata* (*Aedes Aegypti*) transmet la dengue et que *Culex fatigans* en est incapable. Ils montrent que l'incubation de l'infection, chez le moustique, est de onze à quatorze jours et que c'est seulement après ce délai que la piqûre devient infectante.

Ils établissent que le sang du malade est infectieux, pour le moustique, de six à dix-huit heures avant le début de la maladie et pendant les trois premiers jours, bien qu'il arrive que des Stégomyies qui piquent un malade au troisième jour de la maladie peuvent ne pas s'infecter. Enfin, il montre que des Stégomyies, infectés depuis soixante-deux, soixante-six et soixante-quinze jours, étaient encore infectants, ce qui semble indiquer que le moustique, une fois infecté, le reste toute sa vie.

Un peu plus tard, en 1928, Schule devait vérifier et confirmer les données des auteurs précédents.

Après le remarquable travail de Siler, Hall et Hitchens, il semble que l'accord eût dû être fait sur le mode de transmission de la dengue.

Cependant, à lire la plupart des traités classiques de médecine, on se rend compte qu'il n'en était rien. Les expériences de Graham, avec *Culex* (*fatigans*) *pipiens*, gardaient d'autant plus de valeur que peut-être ceux qui s'appuyaient sur elles n'en prenaient pas toujours une connaissance très précise. De plus, le terme même de dengue prêtait à la confusion. En Méditerranée, les épidémies de fièvre de trois jours étaient quelquefois confondues avec la dengue véritable et il en résultait qu'au *Stegomyia fasciata* et au *Culex fatigans* certains auteurs joignaient encore le *Phlebotomus papatasi*. Cette confusion apportée à nos connaissances ne saurait être mieux rendue que par la phrase suivante que nous empruntons à un travail sur la dengue. « On sait qu'elle (la dengue) est transmise en Orient par le Phlébotome, en Afrique par le *Stegomyia* et peut-être aussi le *Culex*. »

Aussi, en 1928, dès l'apparition de la dengue à Athènes, nous décidâmes de vérifier, à notre tour, expérimentalement, le rôle joué par les Stégomyies et les *Culex* dans la transmission de la dengue.

Recherches personnelles.

I. — Le *Stegomyia fasciata* en Grèce.

Une des raisons qui militaient en faveur du rôle joué par les Phlébotomes dans la transmission de la dengue en Grèce est sa grande abondance; le *Stegomyia fasciata* a une répartition beaucoup plus restreinte et n'était, il y a quelques années, avant l'extension brusque qu'a prise la ville, qu'assez peu abondant et assez mal connu.

En 1916, Niclot signale l'espèce à Salonique; Joyeux en 1918 la voit à Itea; en 1920 nous l'avons observée, en grand nombre, à la Canée. Plus tard, en 1923, avec Langeron, nous l'avons retrouvée à Candie, où elle est fort abondante et où nous l'avons observée à nouveau, en 1928, ainsi que dans des villages de Crète jusqu'à une altitude de 500 mètres environ.

A vrai dire, depuis longtemps, l'espèce a été observée en vieille Grèce, au Péloponèse, par Brullé qui l'a décrite sous le nom de *Culex Counoupi*. Bory de Saint-Vincent insisté beaucoup sur les piqûres cuisantes qu'elle a infligées à la mission scientifique de Morée en 1832.

Actuellement, elle est très fréquente à Athènes; c'est une espèce domestique, elle se développe surtout dans les réservoirs où l'on conserve l'eau, dans les bassins de buanderie, et, en général, dans tous les récipients qui se trouvent dans les maisons ou dans le voisinage des habitations. On peut aussi en trouver dans les puits et les citernes. La canalisation, qui fait disparaître les réservoirs d'eau à domicile, amène immédiatement sa disparition. Nous avons observé récemment un exemple typique à Salonique. Dans cette ville, il y a eu de nombreux cas de dengue pendant l'épidémie de 1928, mais répartis de façon très particulière. Alors que certains quartiers ont été à peu près indemnes, d'autres ont connu la pandémie n'épargnant personne par maison. Une enquête que nous avons menée explique ces faits. Dans les quartiers en cause, mêmes conditions de chaleur et d'humidité et cependant dans les uns, dans ceux où il y a eu la dengue, nous avons trouvé de très nom-

breux Stégomyies, dans les autres, ceux que n'a pas touchés l'épidémie, il nous a été impossible d'en trouver. Dans les premiers (quartier de la tour Blanche, rue Romanos, quartier des réfugiés (quartier de Toumba), il n'y a pas de canalisation d'eau courante dans les maisons, les réservoirs d'eau sont nombreux, les Stégomyies abondent; dans les autres (quartiers Saint-Jean Chrysostome, rue d'Epire), dans chaque maison il y a une canalisation d'eau. Inutile de conserver pour la lessive, pour les besoins domestiques de l'eau, il n'y a plus de Stégomyies.

Nous avons fait des constatations analogues en Macédoine occidentale. Nulle part, à Verria, à Edessa (Vodena), Florina, Kastoria, Kozani, Servia, etc., nous n'avons pu trouver de Stégomyies. Peut-être le climat, plus froid en hiver, de Macédoine, convient-il moins aux Stégomyies que la côte humide et chaude. Cependant, l'eau courante que l'on trouve dans toutes les villes que nous venons d'énumérer joue, peut-être aussi, un rôle qui n'est pas négligeable. En fait, pendant la guerre, *Stegomyia fasciata* a été observé à Kastoria, et il existe, au Muséum, des exemplaires provenant de cette ville. En 1929 nous n'avons pu, malgré une recherche très attentive, trouver soit des œufs, soit des larves ou des adultes de cette espèce. Peut-être ceci s'explique-t-il par le fait que, depuis quelques années, une canalisation d'eau courante a été installée à Kastoria et que, maintenant, il est très difficile de trouver, dans les maisons, le moindre récipient où l'on conserve de l'eau pour les besoins domestiques.

II. — Pouvoir infectant des *Stegomyia* nourris expérimentalement sur des malades et des *Stegomyia* capturés dans les chambres de malades.

Lorsque l'épidémie de dengue prit, à Athènes, son extension intense, il devint urgent de démontrer, par des expériences rapides, que les Stégomyies, en Grèce comme ailleurs, étaient bien les agents de transmission de la maladie et que les méthodes de prophylaxie devaient consister uniquement dans la lutte contre cette espèce. Ne pouvant, en milieu infecté, comme l'était Athènes, opérer à coup sûr, malgré toutes les précautions,

nous fîmes l'expérience suivante qui excluait toute cause d'erreur :

Deux lots de Stégomyies furent préparés. L'un, composé d'individus recueillis à Athènes et nourris, à trois reprises, sur un malade atteint de dengue, les premier, deuxième et troisième jours de la maladie. L'autre, composé de Stégomyies pris dans des maisons où il y avait des malades.

Ces deux lots, séparés, furent amenés par nous à 350 kilomètres d'Athènes, dans l'île de Spinalonga, située dans la baie de Mirabello, à l'est de la Crète, c'est-à-dire dans une région où aucun cas de dengue ne s'était produit. Ajoutons que, plus tard, l'île de Spinalonga resta indemne de dengue. Étant donnée la difficulté d'accès de l'île, et l'impossibilité d'y séjourner, il fallut faire des expériences très rapides. Nos Stégomyies, isolés dans des tubes et n'ayant, pour la plupart, pas pondu, refusèrent de piquer les volontaires. Nous modifiâmes alors l'expérience. Trois volontaires furent inoculés sous la peau avec le produit de broyage, en eau physiologique, de 7 Stégomyies recueillis, huit jours auparavant, à Athènes, dans des chambres de malades. De ces trois volontaires, l'un réagit sept jours après l'inoculation, le second huit et le troisième neuf jours après. Deux autres volontaires furent inoculés, avec le produit de broyage, en eau physiologique, de 6 Stégomyies, pris à Athènes et nourris pendant trois jours sur un malade. Les deux volontaires réagirent sept jours après l'inoculation.

Ayant démontré l'infection des Stégomyies nourris expérimentalement sur des malades, ou pris dans les chambres de malades, il fallait encore démontrer que ces moustiques, et eux seuls, transmettaient l'infection par piqûre. De très nombreuses expériences furent faites qui, démontrant ce fait, vinrent confirmer les données établies par nos prédécesseurs, particulièrement par Siler, Hall et Hitchens, et qui apportèrent aussi un certain nombre de données nouvelles.

Nous donnerons, d'abord, l'histoire de nos expériences et en tirerons, ensuite, les conclusions qui en découlent. Comme plusieurs de ces expériences n'ont pu être faites que sur des élevages conservés très longtemps, nous croyons utile de décrire, tout d'abord, notre méthode de conservation des Stégomyies en cage.

III. — La conservation des *Stegomyia* au laboratoire.

La conservation des *Stégomyies* en cage, au laboratoire, est facile. Les moustiques sont résistants au froid, ils se nourrissent en captivité, facilement, de substances sucrées et piquent volontiers l'homme ou les animaux de laboratoire. Mais,

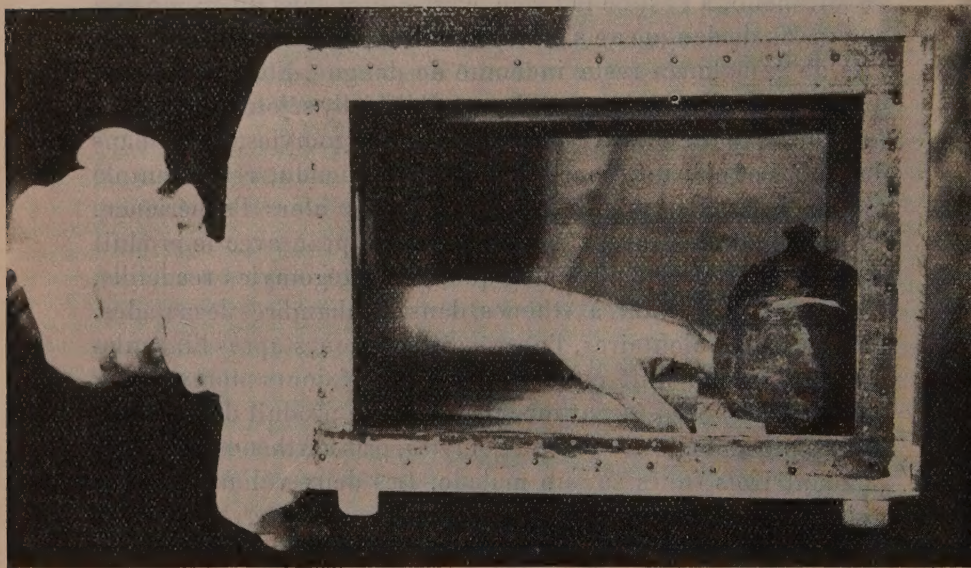


FIG. 1. — Cage dont une des faces latérales a été enlevée pour montrer la disposition intérieure.

quelque résistants qu'ils soient, il n'en devient pas moins difficile d'obtenir une très longue survie, car, si l'humidité n'est pas suffisante ou si la température s'élève, la mortalité devient considérable. Il nous a paru plus facile d'obtenir une longue survie pendant l'hiver, lorsque les moustiques sont placés dans des conditions de température faciles à régler (chambre étuve) que pendant l'été où il devient difficile de lutter contre la dessiccation.

On sait que Siler et ses collaborateurs ont pu démontrer le pouvoir infectant de *Stégomyies* conservés soixante-quinze jours.

Connor admet que, dans des bonnes conditions de chaleur et d'humidité, l'insecte peut vivre en moyenne quatre-vingts jours; d'après Guiteras, il pourrait vivre exceptionnellement, s'il est nourri de fruits et de substances sucrées, cent un et même cent cinquante-quatre jours.

Nous sommes arrivés à conserver facilement des *Stégomyies* plus de cent jours et, dans un cas, nous avons obtenu une

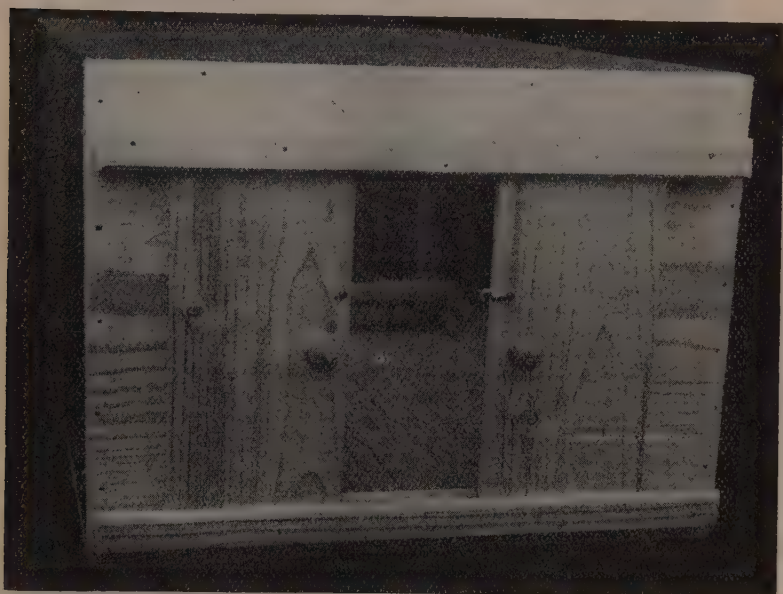


FIG. 2. — Face antérieure de la cage avec sa porte à glissière.
Le manchon de tulle a été enlevé.

survie de deux cent vingt-huit jours. Voici la technique que nous avons adoptée.

a) CAGES. — Les *Stégomyies* sont placés dans des cages longues de 33 centimètres, larges de 29 et hautes de 26. Le fond et la paroi inférieure de ces cages sont en bois plein, la face supérieure et les faces latérales sont en fin grillage galvanisé, à mailles de 0 mm. 76; la face antérieure est formée d'une paroi de bois, percée d'une ouverture que ferme une double porte à glissière. Sur les bords de cette face antérieure est fixé un long

manchon de mousseline (1 mètre), fait de deux épaisseurs, manchon qui permet d'introduire le bras dans la cage sans crainte de faire échapper les moustiques. Ce manchon est fermé par un cordon coulissé (fig. 1 et 2).

Dans les cages sont fixés deux récipients en terre poreuse, remplis d'eau. Ces récipients ne sont autre chose que des « tire-



FIG. 3. — « Tirelire » en terre poreuse (réduite à la moitié de sa taille réelle).

lires » grossières. Ils n'ont comme ouverture que la fente destinée à introduire les pièces de monnaie (fig. 3). Lorsque les vases sont remplis d'eau, la fente est obturée, soigneusement, avec du coton hydrophile. Ces vases humides, aux parois rugueuses, non seulement assurent l'humidité des cages, mais permettent aux Stégomyies de se tenir immobiles et de pondre sans risques de se noyer, comme il arrive fréquemment avec les récipients à surface d'eau libre. Nous avons remarqué que les Stégomyies pondent sur le coton hydrophile et sur toute la

paroi des vases mais que leur point d'élection est le pied du vase, toujours plus humide que les autres parties; les pontes



FIG. 4. — Disposition des cages dans la chambre d'élevage.

forment une sorte de couronne tout autour de sa surface concave.

De temps en temps, il faut changer les vases dont les parois se colmatent et n'assurent plus une humidité suffisante.

b) CHAMBRE D'ÉLEVAGE. — Les cages sont placées dans une chambre noire de 1 m. 25 de large et 1 m. 85 de long. Cette

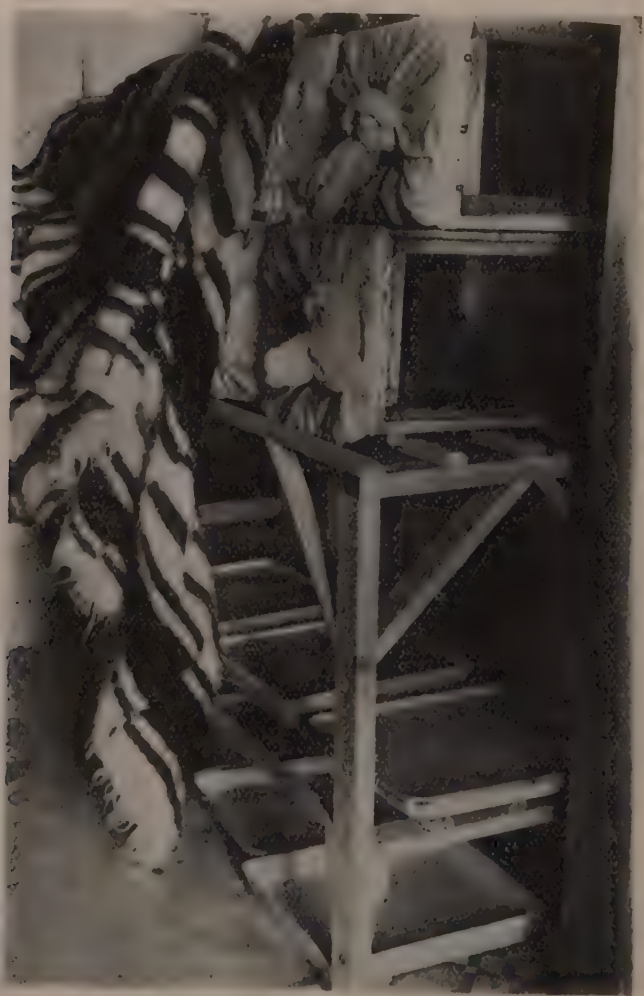
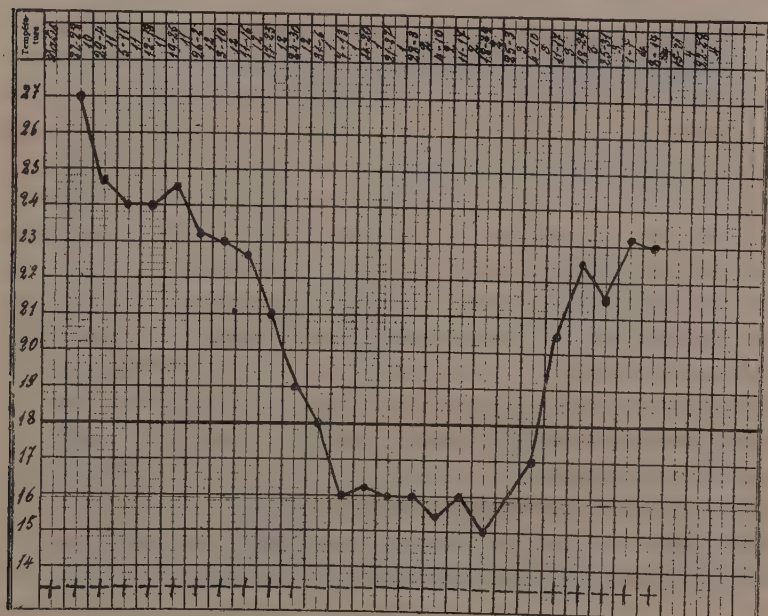


FIG. 5. — Vue des cages, dans la chambre d'élevage, recouvertes en partie de la couverture de laine.

chambre s'ouvre sur une autre chambre noire, plus grande (2 m. 50 sur 1 m. 90), dans laquelle est installé le chauffage. Dans les deux chambres sont placés des récipients pleins d'eau. Les cages sont supportées par des tables à claire-voie sous lesquelles

sont placées d'autres cuvettes pleines d'eau; d'épaisses couvertures de laine recouvrent le tout (fig. 4 et 5). Nous réalisons ainsi une atmosphère humide et chaude; le chauffage est assuré par un petit poêle à gaz avec tuyau de tirage sortant à l'extérieur de la chambre, dans un couloir.

Pendant l'hiver froid qui a sévi en Grèce, en 1929, la température de la chambre d'élevage est tombée à 16° et même



mois de mars 1929, pour hâter le retour du pouvoir infectant de nos Stégomyies, nous avons maintenu le chauffage dans la chambre d'élevage malgré que la température extérieure, à ce moment, atteignît un minimum de 15°. La température de la chambre s'éleva alors à 25°5 et, immédiatement, nous constatâmes une forte mortalité sur les moustiques, mortalité qui cessa dès que le poêle fut éteint. Il semble donc que, pour obtenir une très longue survie des Stégomyies en cage, il ne faille pas, avec le chauffage artificiel, dépasser une moyenne de 20°, quelles que soient les précautions prises pour maintenir une atmosphère saturée d'eau. Ci-joint, nous donnons la courbe de température moyenne, et par semaine, que nous avons eue dans la chambre d'élevage (fig. 6).

c) NOURRITURE. — Nous ne donnons, à nos Stégomyies, dans la cage, que du raisin sec (type raisin de Corinthe) qui est renouvelé dès que les moisissures se développent. Tant que la température extérieure a été assez élevée pour que nous puissions sortir fréquemment les cages, nous n'avons donné d'autres repas sanguins que ceux que prenaient les moustiques sur les sujets d'expérience. Par exemple, les Stégomyies de la cage B, capturés à Athènes, le 8 octobre, ont piqué des sujets d'expérience aux dates suivantes : 15, 18, 23, 27 octobre; 6, 12, 22 novembre. A partir du mois de décembre les sorties ont été moins fréquentes, à cause du refroidissement de la température extérieure, dangereux pour les Stégomyies. Nous avons alors fait nourrir, dans la chambre d'élevage, les moustiques, tous les trois à quatre jours, sur les bras d'un sujet ayant eu la dengue.

Les Stégomyies, soit capturés dans la nature, soit provenant d'élevage, qui ont servi à nos expériences, avaient au moins quelques jours d'existence lorsqu'ils ont été répartis en cages, par lots de 25 à 30. Voici les plus longues survies que nous avons obtenues.

CAGE A : Stégomyies capturés à Athènes, mis en cage le 25 octobre, mort du dernier moustique le 14 mai; survie deux cent un jours.

CAGE B : Stégomyies capturés à Athènes, mis en cage le 9 octobre, mort du dernier moustique le 25 mai; survie deux cent vingt-huit jours.

CAGE ID : Stégomyies provenant d'élevage, mis en cage le 13 novembre, mort du dernier moustique le 25 mars; survie cent quarante-trois jours.

CAGE K : Stégomyies capturés à Athènes, mis en cage le 16 octobre, mort du dernier moustique le 25 mars; survie cent soixante jours.

CAGE M : Stégomyies capturés à Athènes, mis en cage le 27 octobre, mort du dernier moustique le 22 mai; survie deux cent vingt-cinq jours.

CAGE P : Stégomyies provenant d'élevage, mis en cage le 29 novembre, mort du dernier moustique le 3 juin; survie cent quatre-vingt-six jours.

Comme nous l'avons dit plus haut, ces moustiques ont été régulièrement nourris de sang humain et ont eu de nombreuses pontes. Nous les avons transportés à l'hôpital, à 10 kilomètres de notre laboratoire, à plusieurs reprises, par des froids rigoureux : en décembre la température moyenne de la journée variait entre 5° et 10°C au-dessus de zéro; pendant le mois de janvier elle était en moyenne à 4°C au-dessus de 0° et, en février, elle ne dépassait pas 3° à 10°C; les cages étaient transportées en automobile, enveloppées d'une épaisse couverture de laine. Il est à noter que, malgré la très basse température, les Stégomyies se sont toujours gorgés vite et fortement sur les malades. La salle d'hôpital où nous nous opérons n'était pas chauffée et la température ne dépassait pas 10° au-dessus de zéro, les cages étaient placées dans le lit du malade qui enfonceait son bras dans l'ouverture protégée par le manchon de tulle; elles étaient alors recouvertes de couvertures et de coussins.

IV. — Expériences de transmission.

Les expériences de transmission de la dengue par les moustiques ont été menées de la façon suivante : une cage contenant des Stégomyies, provenant soit de capture, soit d'élevage, était conservée, dans les conditions que nous venons de décrire, dans la chambre d'élevage. Après avoir infecté les moustiques contenus dans la cage en les faisant piquer, à plusieurs reprises, un malade atteint de dengue au premier, deuxième, ou troisième jour de la maladie, on faisait piquer des volontaires, à intervalles assez rapprochés, par les moustiques contenus dans la cage. Tous les volontaires ont été choisis dans un hôpital situé à 10 kilomètres d'Athènes, hôpital qui n'avait pas de Stégomyies (1) et où aucun cas de dengue spontanée ne s'est produit ni pendant la pandémie de l'été 1928, ni pendant le temps où nous avons fait nos expériences.

Pour chaque expérience, les cages étaient apportées à l'hôpital, avec toutes les précautions que nous avons indiquées plus haut.

Nous rapporterons toutes les expériences que nous avons pu faire et en tirerons les différentes conclusions qui en découlent.

1° EXPÉRIENCE FAITE AVEC DES *CULEX*.

Un lot d'une trentaine de moustiques du genre *Culex*, comprenant en presque totalité l'espèce *Culex pipiens*, quelques *C. apicalis* et quelques exemplaires d'une espèce que nous rapportons à *Culex laticinctus*, est nourri à quatre reprises, sur des malades atteints de dengue au premier, deuxième, ou troisième jour de la maladie, le 10, le 11, le 16 et le 17 octobre. Ensuite, régulièrement, la cage est portée, à différentes reprises, à l'hôpital où des volontaires sont piqués. Voici l'observation :

(1) Nous avons pu faire nos expériences, de façon très rigoureuse, grâce à l'aide que nous ont prêtée, avec la plus grande complaisance, les docteurs Janiris, Scoulíkides, Mí-sailides et Archalides, directeur, sous-directeur et médecins de l'hôpital Dromokáition.

CAGE D.

Culex recueillis à Athènes, conservés à la chambre d'élevage à la température moyenne de 22°C.

Infectés le 10, 11, 16 et 17 octobre, ils piquent des sujets neufs :

	RÉSULTAT
1. Le 15 octobre, soit après 4-5 jours	—
2. Le 22 octobre, soit après 10-11 jours	—
3. Le 27 octobre, soit après 15-16 jours	—
4. Le 30 octobre, soit après 18-19 jours	—
5. Le 2 novembre, soit après 24-22 jours	—
6. Le 8 novembre, soit après 27-28 jours	—
7. Le 14 novembre, soit après 33-34 jours	—
8. Le 22 novembre, soit après 71-72 jours	—

2° EXPÉRIENCES FAITES AVEC DES STÉGOMYIES.

Ces expériences ont été conduites comme la précédente. La première a été faite avec des *Stegomyia* qui ont piqué, en même temps que les *Culex*, les mêmes malades atteints de dengue. Un des bras du sujet était introduit dans la cage contenant les *Culex*, l'autre bras était introduit dans la cage contenant les *Stegomyia*. Chaque cage contenait environ vingt-cinq *Stegomyia*, sauf la cage A qui n'en contenait que six.

1° CAGE B.

Stégomyies capturés à Athènes. Infectés les 9, 10, 11 octobre sur les mêmes malades qui ont été utilisés pour l'expérience précédente, ces moustiques piquent les sujets neufs suivants :

A. — Conservés à la chambre d'élevage à une température moyenne de 22° C.

	RÉSULTAT
1. Le 15 octobre, soit après 6 jours	—
2. Le 18 octobre, soit après 9 jours	+
3. Le 23 octobre, soit après 14 jours	—
4. Le 27 octobre, soit après 18 jours	+
5. Le 6 novembre, soit après 28 jours	+
6. Le 12 novembre, soit après 34 jours	+
7. Le 22 novembre, soit après 44 jours	+
8. Le 7 décembre, soit après 53 jours	+
9. Le 12 décembre, soit après 64 jours	+
10. Le 20 décembre, soit après 72 jours	—
11. Le 2 janvier, soit après 85 jours	+

B. — *Conservés à la chambre d'élevage à une température moyenne de 16°4.*

	RÉSULTAT
	—
12. Le 19 janvier, soit après 102 jours.	—
13. Le 22 janvier, soit après 105 jours.	—
14. Le 29 janvier, soit après 112 jours.	—
15. Le 12 février, soit après 126 jours.	—
16. Le 16 février, soit après 138 jours.	—
17. Le 16 mars, soit après 158 jours.	—

C. — *Conservés à la chambre d'élevage à une température moyenne de 22°5.*

	RÉSULTAT
	—
18. Le 1 ^{er} avril, soit après 174 jours.	+

Le dernier Stégomyie meurt le 25 juin 1929, soit après 228 jours.

2° CAGE A.

Six Stégomyies capturés à Athènes, conservés à la chambre d'élevage à la température moyenne de 22°C.

Infectés le 29 septembre, le 2 et le 5 octobre sur des malades atteints de dengue depuis 2 et 3 jours. Ces moustiques piquent des sujets neufs aux dates suivantes :

	RÉSULTAT
	—
1. Le 11 octobre, soit après 6-13 jours.	+
2. Le 13 octobre, soit après 8-15 jours.	—
3. Le 15 octobre, soit après 10-17 jours.	—
4. Le 14 octobre, soit après 13-20 jours.	+
5. Le 22 octobre, soit après 17-27 jours.	?

3° CAGE A 1.

Stégomyies pris à Athènes pendant l'épidémie de dengue, infectés le 25 octobre 1929 sur un malade au 2^{me} jour de sa dengue. Ces moustiques piquent des sujets neufs :

A. — *Conservés à la chambre d'élevage à la température moyenne de 22° C.*

	RÉSULTAT
	—
1. Le 6 novembre, soit après 12 jours.	—
2. Le 12 novembre, soit après 18 jours.	—
3. Le 21 novembre, soit après 27 jours.	+
4. Le 6 décembre, soit après 42 jours.	+
5. Le 12 décembre, soit après 48 jours.	?
6. Le 2 janvier, soit après 69 jours.	+

B. — *Conservés à la chambre d'élevage à une température moyenne de 16°4.*

	RÉSULTAT
	—
7. Le 14 février, soit après 112 jours.	—
8. Le 15 mars, soit après 141 jours.	—

C. — *Conservés à la chambre d'élevage à une température moyenne de 22°5.*

RÉSULTAT

9. Le 1^{er} avril, soit après 158 jours —

Le dernier moustique meurt le 14 mai avec une survie de 201 jours.

4° CAGE M.

Stégomyies pris à Athènes dans les maisons de la poudrerie où l'épidémie de dengue a sévi intensément. Ces moustiques ne sont pas infectés expérimentalement sur malades.

Capturés le 27 octobre 1923, ils sont, à plusieurs reprises, nourris sur des sujets neufs avec les résultats suivants :

A. — *Conservés à 22° C.*

RÉSULTAT

1. Le 28 octobre, capturés depuis 1 jour —

2. Le 2 novembre, capturés depuis 6 jours +

3. Le 6 novembre, capturés depuis 10 jours —

B. — *Conservés à 16°4.*

4. Le 14 mars, capturés depuis 143 jours —

C. — *Conservés à 22°5.*

5. Le 29 mars, capturés depuis 158 jours +

Le dernier moustique meurt le 29 mai, avec une survie de 225 jours.

5° CAGE P.

Stégomyies provenant d'élevage au laboratoire. Ils sont infectés les 9, 10 et 11 octobre, sur les mêmes malades qui ont servi à infecter les cages D et B. Conservés à la chambre d'élevage, à une température moyenne de 22° C, ils piquent des sujets neufs aux dates suivantes :

RÉSULTAT

1. Le 15 octobre, soit après 4-8 jours —

2. Le 18 octobre, soit après 7-9 jours +

3. Le 23 octobre, soit après 12-14 jours +

4. Le 25 octobre, soit après 14-16 jours +

5. Le 25 octobre, soit après 19-21 jours —

6. Le 6 novembre, soit après 26-28 jours +

7. Le 12 novembre, soit après 31-33 jours +

Tous ces Stégomyies, par suite d'un accident, meurent le 28 novembre.

6° CAGE P 2.

Stégomyies provenant d'élevage au laboratoire, infectés le 29 novembre et le 1^{er} décembre sur des malades atteints de dengue depuis un et deux jours. Ils piquent des sujets neufs aux dates et dans les conditions suivantes :

A. — *Conservés à une température moyenne de 16°4.*

	RÉSULTAT
1. Le 4 janvier, soit après 34-36 jours	—
2. Le 6 février, soit après 67-69 jours	—

B. — *Conservés à une température moyenne de 16°4, mais placés à plusieurs reprises pendant la nuit à une température de 28°.*

	RÉSULTAT
3. Le 14 février, soit après 75-77 jours	+
4. Le 1 ^{er} mars, soit après 90-92 jours	+
5. Le 16 mars, soit après 115-117 jours	—

C. — *Conservés à une température moyenne de 22°5.*

	RÉSULTAT
6. Le 5 avril, soit après 135-137 jours	—
Le dernier Stégomyie meurt le 3 juin 1929, soit après 186 jours.	

7° CAGE O.

Stégomyies capturés à Athènes, infectés le 17, 18 et 22 octobre sur deux malades au 1^{er}, 2^e et 3^e jour de dengue. Conservés à la chambre d'élevage, à la température moyenne de 22°C, mis à piquer sur des sujets neufs aux dates suivantes :

	RÉSULTAT
1. Le 2 novembre, soit après 11-16 jours	—
2. Le 8 novembre, soit après 17-22 jours	—
3. Le 21 novembre, soit après 30-35 jours	+
4. Le 6 décembre, soit après 45-50 jours	+

8° CAGE K.

Stégomyies capturés à Athènes, infectés le 16 et le 29 octobre sur deux malades ayant la dengue depuis 2 jours. Ces moustiques piquent des sujets neufs aux dates suivantes.

A. — *Conservés à 22° C.*

	RÉSULTAT
1. Le 24 octobre, soit après 8 jours	—
2. Le 8 novembre, soit après 10-23 jours	—
3. Le 14 novembre, soit après 16-29 jours	+
4. Le 1 ^{er} décembre, soit après 33-46 jours	+
5. Le 20 décembre, soit après 52-65 jours	+
6. Le 4 janvier, soit après 67-80 jours	+

C. — *Conservés à la chambre d'élevage à une température moyenne de 16°4.*

	RÉSULTAT
7. Le 11 mars, soit après 133-146 jours	—
Le dernier moustique meurt le 25 mars, après une survie de 160 jours.	

9° CAGE I D.

Stégomyies provenant d'élevage, infectés le 22 décembre sur un malade au 3^e jour de sa dengue. Les moustiques sont mis à piquer sur des sujets neufs aux dates suivantes :

A. — *Conservés à la chambre d'élevage à la température moyenne de 16°4.*

RÉSULTAT

- | | |
|---|---|
| 1. Le 1 ^{er} mars, soit après 69 jours | — |
| 2. Le 11 mars, soit après 79 jours. | — |

B. — *Conservés à la chambre d'élevage à la température de 22°5.*

RÉSULTAT

- | | |
|---|---|
| 3. Le 5 avril, soit après 104 jours | + |
|---|---|

Le dernier moustique meurt le 26 avril, après une survie de 124 jours.

10° CAGE I.

Stégomyies provenant d'élevage, infectés les 10 et 12 décembre sur des malades aux 2^e et 3^e jours de leur dengue. Ces moustiques sont conservés à la chambre d'élevage, à la température de 16°4; ils piquent des sujets neufs aux dates suivantes :

RÉSULTAT

- | | |
|--|---|
| 1. Le 20 décembre, soit après 8-10 jours. | — |
| 2. Le 16 janvier, soit après 35-37 jours | — |
| 3. Le 6 février, soit après 56-58 jours | — |
| 4. Le 14 février, soit après 64-66 jours | — |
| 5. Le 11 février, soit après 89-91 jours | — |

Le dernier moustique meurt le 18 avril, après une survie de 129 jours.

11° CAGE Ph-G.

Stégomyies provenant d'élevage, infectés le 17 juin 1929 sur un malade au 4^e jour de sa dengue. Conservés à la température moyenne de 22°5, piquent des sujets neufs :

RÉSULTAT

- | | |
|---|---|
| 1. Le 2 juillet, soit après 15 jours. | + |
| 2. Le 2 juillet, soit après 15 jours. | + |

12° CAGE R S.

Stégomyies provenant d'élevage, infectés le 17 juin sur un malade au 5^e jour de sa dengue. Conservés à la température de 22°5, piquent des sujets neufs :

RÉSULTAT

- | | |
|---|---|
| 1. Le 2 juillet, soit après 15 jours | + |
| 2. Le 20 juillet, soit après 33 jours | + |

Conclusions à tirer des expériences de transmission
de la dengue par piqûre soit de *Culex*, soit de *Stegomyia*
infectés sur des malades.

1° LE RÔLE DES *CULEX*. — Siler, Hall et Hitchens ont montré, par des expériences précises, que *Culex fatigans* (= *C. Quinquefasciatus*) ne transmet pas la dengue. Six volontaires piqués par des *Culex fatigans*, infectés sur des malades au premier jour de la dengue, depuis douze jours, n'ont pas contracté la maladie et ont été infectés plus tard par piqûre de Stégomyies.

Dans nos expériences, 8 volontaires ont été piqués par des *Culex pipiens* gorgés sur des malades aux trois premiers jours de la maladie et infectés depuis cinq à soixante-douze jours. Aucun des volontaires n'a fait de dengue, alors que d'autres sujets piqués par des Stégomyies nourris sur les malades utilisés dans les expériences faites avec le *Culex* ont réagi. On peut en conclure que le *Culex pipiens*, comme le *Culex fatigans*, ne joue aucun rôle dans la transmission de la dengue.

2° LE RÔLE DE *STEGOMYIA FASCIATA* (*Aedes argenteus*). — De 73 expériences faites sur des volontaires, qui ont été piqués par des Stégomyies infectés sur des malades atteints de dengue, 2 ont eu des formes douteuses et 37 n'ont pas réagi. De ces 37 cas négatifs, nous devons écarter 6 cas, ceux des sujets piqués par des Stégomyies infectés depuis moins de neuf jours, et 18 cas, ceux des sujets piqués par des Stégomyies conservés à une température de 16°, température à laquelle, comme nous le montrent les expériences, les moustiques ne sont pas infectants. Il reste donc 13 cas négatifs à opposer aux 34 cas positifs.

De l'ensemble des expériences que nous avons exposées, il ressort, de façon nette, que le *Stegomyia fasciata* (*Aedes argenteus*), infecté sur malade atteint de dengue, transmet la maladie, par piqûre, à des sujets neufs.

V. — Le comportement du virus de la dengue chez le *Stegomyia*.

1° COMBIEN DE TEMPS APRÈS LE REPAS INFECTANT LE *STEGOMYIA* PEUT-IL TRANSMETTRE LA DENGUE PAR PIQÛRE?

Siler et ses collaborateurs, en faisant piquer 13 volontaires par des *Stégomyies* infectés depuis neuf à dix-sept jours, constatent que seuls ceux qui furent piqués par des moustiques infectés depuis plus de dix jours contractèrent la dengue. 1 cas négatif après sept jours, 2 cas après neuf jours, 2 cas après dix jours et un cas après onze jours. Ces expériences très précises ne confirmèrent pas celles antérieures de Chandler et Rice qui tendaient à prouver que les *Stégomyies* sont infectants au quatrième, troisième et même deuxième jour qui suit le repas infectant. Plus récemment, A. Schule, opérant sur 7 volontaires, n'a pu réussir à transmettre la dengue, par piqûre de *Stégomyies* infectés depuis deux, trois, quatre et six jours. Il a réussi la transmission avec des *Stégomyies* infectés depuis huit, dix jours ou davantage.

Les conclusions que l'on peut tirer de nos expériences infirment celles de Chandler et Rice et s'accordent d'une façon générale avec celles de Siler, Hall, Hitchens, et celles de Schule.

En ne tenant compte que des sujets piqués par des moustiques infectés depuis vingt jours au plus et conservés à la chambre-étuve à une température moyenne de 22°C., nous comptons 26 expériences de transmission qui nous donnent les résultats suivants :

- 3 sujets, piqués par des *Stégomyies* infectés depuis un à huit jours = 5 résultats négatifs.
- 2 sujets, piqués par des *Stégomyies* infectés depuis neuf jours = 2 résultats positifs.
- 3 sujets, piqués par des *Stégomyies* infectés depuis dix jours = 1 résultat positif, 2 résultats négatifs.
- 1 sujet, piqué par des *Stégomyies* infectés depuis onze jours = 1 résultat négatif.
- 2 sujets, piqués par des *Stégomyies* infectés depuis douze jours = 1 résultat positif, 1 résultat négatif.
- 2 sujets, piqués par des *Stégomyies* infectés depuis treize jours = 2 résultats positifs.

- 2 sujets, piqués par des Stégomyies infectés depuis quatorze jours = 1 résultat positif, 1 résultat négatif.
4 sujets, piqués par des Stégomyies infectés depuis quinze jours = 3 résultats positifs, 1 résultat négatif.
1 sujet, piqué par des Stégomyies infectés depuis seize jours = 1 résultat positif.
1 sujet, piqué par des Stégomyies infectés depuis dix-sept jours = 1 résultat négatif.
2 sujets, piqués par des Stégomyies infectés depuis dix-huit jours = 1 résultat positif, 1 résultat négatif.
1 sujet, piqué par des Stégomyies infectés depuis dix-neuf jours = 1 résultat positif.

Au total, sur 26 expériences de transmission de la dengue par piqûre de Stégomyies, nous en comptons 5, toutes négatives, faites en utilisant des moustiques infectés depuis moins de neuf jours; 21, dont 12 positives, faites avec des Stégomyies infectés depuis plus de huit jours.

On peut conclure que les Stégomyies infectés sur des malades aux premiers jours de la maladie ne deviennent infectants qu'après un temps d'incubation de huit jours.

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE. — Ce temps d'incubation de huit jours, nécessaire pour qu'apparaisse le pouvoir infectant des Stégomyies, ne doit être considéré comme suffisant que si les moustiques infectés sont maintenus à une température moyenne de 22°C ou plus.

A basse température, les Stégomyies infectés conservent le virus, mais ne deviennent pas infectants. Ils ne peuvent transmettre l'infection par piqûre, l'expérience que nous avons faite avec les moustiques de la cage I D le montre. Des Stégomyies infectés le 22 décembre, et conservés à 15° C, ne sont devenus infectants que le 11 mars, soit soixante-dix-neuf jours plus tard, lorsqu'ils ont été reportés à une température de 22° C. Une autre expérience, celle de la cage I, montre que des Stégomyies infectés sur des malades et conservés cent vingt-neuf jours à une température de 16°4 ne sont jamais devenus infectants.

2° COMBIEN DE TEMPS LES STÉGOMYIES INFECTÉS SUR UN MALADE ATTEINT DE DENGUE RESTENT-ILS INFECTANTS ?

Siler, Hall et Hitchens ont réussi à transmettre la dengue par piqûre de Stégomyies infectés depuis soixante-quinze jours. Ils en concluent que, pratiquement, il faut admettre que les Stégomyies restent infectants pendant toute leur vie. Cette opinion est confirmée par les expériences que nous avons pu faire en conservant en vie des Stégomyies bien au delà du terme normal que l'on observe dans la nature. Les expériences que nous avons exposées plus haut montrent que des Stégomyies infectés depuis quatre-vingts jours (cage K) sont infectants. Ils le sont encore après quatre-vingt-douze jours (cage P2), cent quatre jours (cage I D), cent cinquante-huit jours (cage M), et enfin cent soixante-quatorze jours (cage B).

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE. — Là encore intervient le facteur température. S'il est vrai que les Stégomyies conservent l'infection durant toute leur vie, ils ne sont infectants que lorsque la température moyenne, à laquelle ils sont soumis, est d'environ 20 à 22° C. Au-dessous de 20°, à une moyenne exacte de 16°4 dans nos expériences, ils perdent leur pouvoir infectant, ils le récupèrent lorsque la température remonte à 20-22° C (Voir les expériences des cages B, A1, M, P2, K, ID).

3° A QUEL MOMENT DE L'INFECTION

LES MALADES ATTEINTS DE DENGUE

PEUVENT-ILS INFECTER LES STÉGOMYIES QUI SE NOURRISSENT SUR EUX ?

Siler, Hall et Hitchens, auxquels il faut toujours se reporter pour tout ce qui concerne la transmission de la dengue, ont montré que le sang des malades est infectant pour le moustique pendant les trois premiers jours de la maladie, mais que, cependant, il arrive que des moustiques ne s'infectent pas lorsqu'ils piquent un malade au troisième jour de sa dengue.

Dans notre premier travail, cité plus haut, nous avons montré que le sang des malades, au troisième jour de la maladie, peut également ne pas être infectant lorsqu'il est

inoculé à l'homme par voie sous-cutanée. Cependant, on ne doit pas conclure que, d'une façon absolue, le sang des malades n'est plus virulent après le troisième jour. Nous avons montré, par les expériences faites avec les cages Ph.G. et R.S., que des Stégomyies infectés sur des malades au cinquième jour de leur maladie ont transmis, quinze jours plus tard, à des volontaires, une dengue typique.

On doit conclure que le sang des malades atteints de dengue peut être infectant pour le moustique, jusqu'au cinquième jour de la maladie et probablement pendant toute la période fébrile.

4° SOUS QUELLE FORME SE TROUVE LE VIRUS DE LA DENGUE DANS L'ORGANISME DU STEGOMYIA?

On sait que Stokes, Bauer et Hudson ont montré que le virus de la fièvre jaune, qui traverse aisément les filtres Berkefeld et Seitz, lorsque le produit filtré est du sérum de malade, ne passe plus à travers ces filtres, même les plus poreux, et sous forte pression, si le produit virulent est une émulsion aqueuse de Stégomyies infectés, broyés en eau physiologique. Les expériences que nous avons faites avec des Stégomyies infectés de virus de la dengue montrent que ce virus reste très filtrable, même dans l'organisme du moustique.

Voici une expérience :

Le 11 décembre 1928, 9 stégomyies infectés depuis quarante-sept jours et 5 stégomyies infectés depuis cinquante-six jours sont broyés finement, émulsionnés dans 50 cent. cubes d'eau physiologique. Le tout est filtré sur bougie L₂. Les microbes intestinaux des moustiques servant de test. Ce filtrat, qui se montre stérile par la suite, est passé, le lendemain, sur une nouvelle bougie plus serrée L₃. Les deux filtrations ont été faites à la pression atmosphérique. Un volontaire est inoculé, ce même jour, par voie intraveineuse, avec 20 cent. cubes du filtrat. Sept jours plus tard commence la dengue.

Ces résultats montrent que le virus de la dengue reste, dans l'organisme du *Stegomyia*, très filtrable. Ils ne sont pas en faveur de l'hypothèse que les *Rickettsia*, observées par A. W. Sellards et J. F. Siler chez les Stégomyies infectés par le virus de la dengue, représentant l'agent pathogène de cette maladie.

Résumé et conclusions.

1° Le *Culex pipiens*, infecté sur malades atteints de dengue, est incapable de transmettre la maladie par piqûre.

2° Des Stégomyies infectés, soit dans des conditions naturelles, soit expérimentalement, de virus de dengue, peuvent vivre au moins deux cent vingt-huit jours en captivité.

3° Les Stégomyies infectés deviennent infectants après une incubation de huit jours et restent infectants au moins cent soixante-quatorze jours, c'est-à-dire, pratiquement, toute leur vie, s'ils sont soumis à une température moyenne d'environ 20° C au moins.

4° A basse température moyenne (16° C), les Stégomyies infectés n'acquièrent pas leur pouvoir infectant, quelle que soit la durée de l'incubation (au moins cent quatre jours). Lorsque ces Stégomyies sont infectants, ils perdent leur pouvoir infectant lorsqu'ils sont soumis à la température de 16°. A 22° C, les Stégomyies infectés acquièrent ou récupèrent leur pouvoir infectant.

5° Le virus de la dengue persiste dans le sang des malades au moins jusqu'au cinquième jour de la maladie et peut infecter les Stégomyies.

6° Le virus de la dengue contenu dans l'organisme du moustique traverse facilement les bougies Chamberland L₂ et L₃ à la pression atmosphérique.

CHAPITRE II

ESSAIS DE TRANSMISSION DE LA DENGUE AUX ANIMAUX DE LABORATOIRE (1)

Les données fournies par les différents auteurs qui ont tenté de transmettre la dengue aux animaux de laboratoire sont assez discordantes.

Voderman (d'après Corre, cité par Dopter et de Lavergne) avait tenté de reproduire la dengue chez un singe (sp.?) en lui

(1) Les expériences rapportées dans ce chapitre ont été, en partie, faites avec nos collègues A. Dumas et Saenz.

inoculant dans les veines du sang d'une malade atteinte de « fièvre rouge ».

C. H. Lavinder et E. Francis, en 1914, n'obtiennent aucun résultat en inoculant, sous la peau ou dans les veines, à des singes appartenant à l'espèce *M. rhesus*, de fortes doses (3-10 cent. cubes) de sang virulent.

A. Gauducheau, en 1915, inocule des *M. rhesus* avec du sang de malades et croit obtenir un résultat positif. Nous reviendrons plus loin sur ses expériences.

R. Kraus, en 1916, inocule des cobayes et n'observe aucun symptôme morbide, aucune élévation de température bien qu'il eût soin de prendre la température très régulièrement pendant huit jours.

Les savants japonais Koizumi, Yamaguchi et Tonomura, expérimentant à Formose, en 1917, n'obtiennent aucun résultat en inoculant de petites quantités de sang, provenant de malades atteints de dengue, au chien, au lapin, à la souris blanche ou aux singes.

Par contre, les cobayes se montrent sensibles; ils meurent après trois à trente-six jours. L'inoculation du sang de ces cobayes à de nouveaux cobayes entraîne la mort après cinq à dix-neuf jours par inoculation intrapéritonéale, et, après vingt-huit à trente-quatre jours, par inoculation intraveineuse; mais il est impossible d'obtenir un troisième passage.

Couvy, en 1921, étudie en Syrie une maladie qui, d'après les symptômes cliniques décrits par l'auteur, paraît bien être la dengue, mais l'auteur semble identifier cette maladie avec la fièvre de trois jours et essaie d'infecter des lapins en leur inoculant des Phlébotomes gorgés de sang et broyés. Il obtiendrait, neuf jours après l'inoculation, une ascension thermique de 1° qui durerait vingt-quatre heures.

Carbo Noboa, en 1924, étudiant au Gayaquil une épidémie de dengue, constate que des cobayes inoculés avec du sang de malades peuvent soit mourir des suites de l'inoculation, soit survivre après avoir eu la fièvre.

Enfin, également en 1924, W. Harris et Ch. Duval étudient une épidémie de dengue en Louisiane et tentent de reproduire la maladie chez les animaux de laboratoire. Ils réussissent à donner au cobaye une maladie fébrile, à rechute (courbe du

type « Saddleback »), caractérisée par une leucopénie forte, par de la splénomégalie et une augmentation de volume des ganglions mésentériques. La culture du sang des malades est positive en milieu de Noguchi et permet de reproduire chez le cobaye la maladie typique. Le travail de Harris et Duval, très consciencieux, n'entraîne cependant pas la conviction. Les cobayes d'expérience font des températures très élevées, 41° et au-dessus, qui ne rappellent nullement le type fébrile des maladies à virus invisible, mais beaucoup celui que l'on obtient avec certains microbes tels que le Para B et dont nous avons donné antérieurement des exemples typiques. Or, justement, les auteurs remarquent qu'il arrive, au cours de leurs expériences, que des infections secondaires à Para B viennent se superposer à l'infection due au virus de la dengue.

A toutes les expériences que nous venons de résumer, il manque la preuve que la maladie expérimentale a bien été la dengue, car, dans aucun cas, il ne fut fait de passage à l'homme pour régler ce point capital.

En 1928, nous avons rapporté en détail les expériences de transmission de virus de la dengue aux cobayes, aux lapins, aux rats blancs, aux coqs et aux pigeons, que nous avons faites en contrôlant toujours nos expériences par l'inoculation, à l'homme, du sang ou des organes de ces animaux d'expériences. Nous avons pu ainsi déceler, chez le cobaye, une infection inapparente du type de celle que Nicolle et Lebaillly ont observée chez le même animal avec le virus du typhus exanthématique.

Dans le présent travail, nous rapporterons, en détail, les expériences que nous avons faites sur les rats blancs, les chiens, les lapins et sur diverses espèces de singes.

I. — Essai de transmission de la dengue aux rats blancs.

Dans le précédent travail dont nous parlons plus haut, nous avons rapporté les premières expériences que nous avons faites de transmission de la dengue au rat blanc. Huit rats avaient été inoculés avec le sérum d'autant de malades atteints de dengue depuis un ou deux jours. Deux des rats sont morts

moins de vingt-quatre heures après l'inoculation. Les autres sont restés en bonne santé. En les sacrifiant, pour faire des passages à d'autres rats, nous n'avons pas observé de lésions macroscopiques.

Deux hommes ont été inoculés avec le sérum de deux de ces rats, prélevé au cinquième jour après l'inoculation. L'un d'eux a fait, cinq jours après l'épreuve, une élévation de température que nous n'avons pas cru devoir tenir comme signe de dengue, car, outre qu'aucun signe clinique n'a permis de porter le diagnostic, un passage fait à un autre volontaire, avec le sang de ce malade, est resté négatif.

Depuis, nous avons refait d'assez nombreuses expériences. Seize rats blancs ont été inoculés soit sous la peau, soit dans le péritoine, soit dans le testicule, soit dans le cerveau, avec du sérum virulent de malades atteints de dengue. Le sang de ces animaux et le produit de broyage de leurs viscères ont été inoculés, ensuite, sous la peau, à des volontaires, au total 24. Dans deux cas seulement l'inoculation a transmis la dengue.

Voici l'observation :

Deux rats blancs sont inoculés, le 24 novembre 1928, avec du sérum de malade atteint de dengue. Chaque animal reçoit 2 c.c. 5 de sérum : l'un (rat 1) sous la peau, l'autre (rat 2) dans le péritoine.

Le 28 novembre, soit sept jours plus tard, le rat 1 est trouvé mort. Ce même jour, le rat 2 est sacrifié; le sang est prélevé par ponction du cœur et la rate, le foie et les poumons, qui sont tout à fait normaux; sont broyés en eau physiologique. Le lendemain, 29 novembre, deux sujets volontaires sont inoculés, sous la peau, l'un avec 1 cent. cube de sérum, l'autre avec 1 cent. cube de l'émulsion d'organes. Le 8 décembre, les deux inoculés réagissent et font une dengue typique avec éruption. Pour confirmer le diagnostic, le lendemain 9 décembre, un passage est fait avec le sang de chaque malade à un nouveau sujet volontaire; chacun reçoit 10 cent. cubes de sang sous la peau. L'un réagit le 14, l'autre le 15 décembre.

De cette seule expérience, il est impossible de savoir si le rat a simplement conservé le virus inoculé ou si, comme il arrive pour le cobaye, cette espèce peut contracter une dengue inapparente.

II. — Essais de transmission de la dengue au chien.

Dans notre première série d'expériences, nous avons inoculé un chien sans succès, mais nous n'avions pas inoculé le sang de cet animal à l'homme et nous ne pouvions pas conclure à sa non-réceptivité, au moins sous forme de dengue inapparente. Nous avons, depuis, refait l'expérience avec deux chiens. Ces animaux étaient inoculés sous la peau avec du sérum virulent, en même temps que des volontaires servant de témoins. Au moment où la dengue expérimentale se déclara chez les témoins, une ponction du cœur fut faite aux chiens qui étaient restés en parfaite santé. Un passage à l'homme fait avec le sérum du chien resta, dans les deux cas, complètement négatif.

III. — Essai de transmission de la dengue au lapin.

Une première série d'expériences nous avait montré la non-réceptivité du lapin. Nous avons modifié notre technique en inoculant, cette fois, le sérum virulent dans le cerveau du lapin en même temps qu'un autre virus, vaccine ou herpès. Cette association n'a pas donné de résultat et les volontaires, inoculés avec les cerveaux de lapin, n'ont pas contracté la dengue.

IV. — Essai de transmission de la dengue au singe.

Plusieurs expérimentateurs ont tenté, sans succès, de transmettre la dengue à diverses espèces de singes; d'autres ont cru réaliser cette transmission. A tous ces essais, il manque une preuve indispensable, celle donnée par l'inoculation à une espèce sensible, à l'homme, du sérum ou du sang des singes éprouvés.

C'est d'abord Voderman qui inocula dans les veines un singe d'une espèce non déterminée, avec du sang de femme atteinte

de fièvre rouge. L'animal présenta des signes de maladie, il eut de la fièvre et guérit en quelques jours.

En 1914, C. Lavinder et E. Francis n'obtiennent aucun résultat en inoculant sous la peau ou dans les veines des singes de l'espèce *Macacus rhesus* avec 3 à 10 cent. cubes de sérum virulent.

En 1915, A. Gauducheau essaie d'infecter, lui aussi, des Macaques de l'espèce *rhesus*. Un premier animal est inoculé

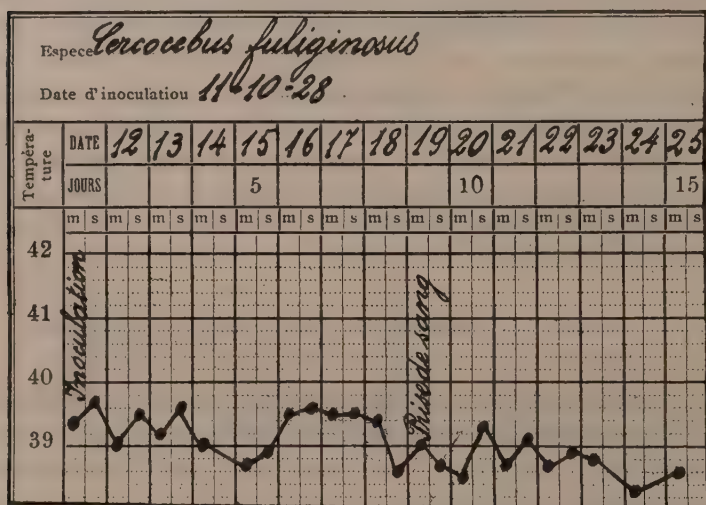


FIG. 7. — (Courbe 1). Courbe de température de Mangabey.

sous la peau, à l'aide d'un vaccinostyle, avec une goutte de sang virulent. Le jour de l'inoculation et le lendemain l'animal ne présente rien d'anormal. Après deux jours, le singe présente de l'inappétence très nette. Sa température, qui était fixe depuis deux jours, matin et soir, s'éleva de 1°. Le lendemain, Gauducheau fait un passage à un second macaque *rhesus*, par inoculation d'une goutte de sang du premier singe. L'inappétence apparut chez ce second macaque dès le lendemain et dura six jours. Du sang du deuxième singe inoculé à un troisième animal ne produisit aucun effet. Le troisième singe était plus âgé que les deux autres. Gauducheau insiste que ce n'est que par l'observation très attentive du régime alimentaire qu'il a pu noter la maladie expérimentale. Il reconnaît que ni la courbe

de température, ni les signes cliniques n'avaient fourni l'indication que les singes étaient sensibles au virus de la dengue. Il est regrettable que cette intéressante observation n'ait pas été confirmée par l'inoculation de sang de singe à l'homme.

En 1917, Koizumi, Yamaguchi et Tonomura n'obtiennent aucun résultat par inoculation de sang virulent à des singes.

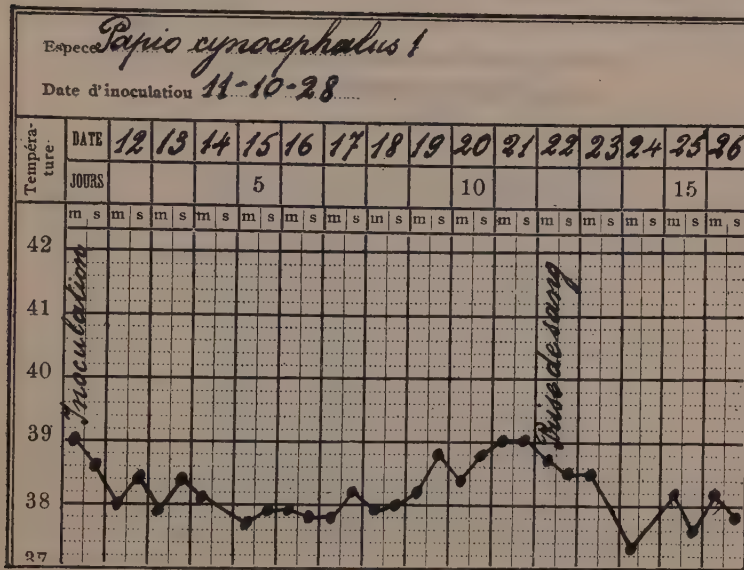


FIG. 8. — (Courbe 2). Courbe de température du Babouin 1.

Nous avons fait des essais de transmission de la dengue à plusieurs espèces de singes inférieures. Nous donnons ci-dessous les observations de ces animaux et nous en tirerons les conclusions qui pourraient en découler.

EXPÉRIENCE I. — Mangabey (*Cercocebus fuliginosus* E. Geoffroy).

Un singe de cette espèce est inoculé à Paris, le 11 octobre 1928, sous la peau de la cuisse, avec 2 cent. cubes de sérum virulent formé du mélange de sérums de trois malades, l'un au troisième, l'autre au second et le troisième au premier jour de leur dengue. Une prise de sang est faite, le 19 octobre, soit six jours après l'injection, pour inoculation à l'homme. Cette dernière expérience n'a pas pu être faite. Suivi pendant quinze jours, l'animal n'a présenté à aucun moment de symptôme de maladie. (Courbe 1.)

EXPÉRIENCE II. — Babouin 1 (*Papio cynocephalus* E. Geoffroy).

Le singe est inoculé à Paris, le 11 octobre, dans les muscles de la cuisse gauche, avec 5 cent. cubes de sérum provenant de trois malades, ceux de

l'expérience précédente. A aucun moment, pendant quinze jours que dura l'observation, on ne constate le moindre signe de maladie. L'examen du sang après coloration et à l'ultra-microscope ne montre aucun parasite. Les cultures de sang, en milieux variés, restent négatives.

Le 21 octobre, il est prélevé, par ponction du cœur, 10 cent. cubes de sang. Le sérum de ce sang est inoculé, à Athènes, à un volontaire le 6 novembre. Le résultat est nul. (Courbe 2.)

EXPÉRIENCE III. — Babouin 2 (*Papio cynocephalus* E. Geoffroy).

Le 29 mai 1929, le singe est inoculé dans les muscles de la cuisse droite,

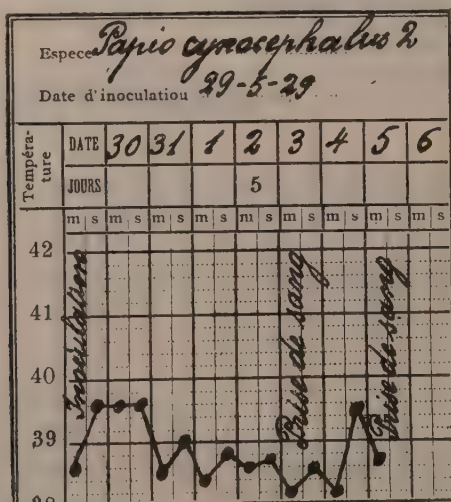


FIG. 9. — (Courbe 3). Courbe de température du Babouin 2.

avec 11 cent. cubes de sérum, mélange du sérum de trois malades aux premier et deuxième jours de leur dengue.

Le 3 juin, cinq jours après l'inoculation, première saignée de 15 cent. cubes de sang, par ponction du cœur. Le même jour, inoculation à un volontaire de 7 cent. cubes de sérum provenant de ce sang. Résultat nul.

Le 5 juin, sept jours après l'inoculation, nouvelle ponction du cœur, saignée de 15 cent. cubes.

Le 6 juin, inoculation à un volontaire de 6 cent. cubes de sérum de ce sang.

Le 13 juin, le sujet réagit, fait une dengue typique. Des Stégomyies gorgés sur lui deviennent infectants. Le babouin ne présente aucun signe de maladie pendant les huit jours qu'il fut suivi (Courbe 3). Au cours de la seconde ponction du cœur il mourut de syncope chloroformique. L'examen du sang, avant et après l'inoculation, donna les résultats suivants :

1^o 28 mai 1929, un jour avant l'inoculation.

Numeration globulaire :

Globules rouges. 5.450.000
Globules blancs 7.000

Formule leucocytaire :

Mononucléaires	66
Polynucléaires neutrophiles	31
Polynucléaires de transition	2
Polynucléaires basophiles	1

2^o 3 juin 1929, cinq jours après l'inoculation.

Numération globulaire :

Globules rouges	4.480.000
Globules blancs	6.000

Formule leucocytaire :

Mononucléaires	69
Polynucléaires neutrophiles	31

EXPÉRIENCE IV. — Macaque (*Cynomolgus fascicularis* Raffles).

Le singe est inoculé, à Athènes, le 14 novembre 1928, sous la peau de la cuisse, avec 10 cent. cubes d'un mélange de trois sérums virulents de malades au deuxième jour de leur dengue.

Cinq jours plus tard, le 19 novembre, saignée, par ponction du cœur, de 10 cent. cubes de sang. Le même jour, 3 cent. cubes de sérum de ce sang sont inoculés à un volontaire, qui fait de la dengue six jours plus tard.

Le Macaque est de nouveau saigné, le 21 novembre, soit sept jours après l'inoculation infectante, par ponction du cœur. 10 cent. cubes de sang sont prélevés et 3 cent. cubes de sérum sont inoculés, le même jour, à un nouveau volontaire qui commence la dengue huit jours plus tard.

Enfin, un troisième prélèvement de sang, toujours du cœur, est encore fait au Macaque, le 27 novembre, c'est-à-dire treize jours après l'inoculation du sérum humain. Avec le sérum de cette troisième prise nous inoculons encore un volontaire. Cette fois, l'inoculation à l'homme est négative.

Nous voulons savoir alors si ce singe, qui à la suite d'une inoculation de sang humain a été infecté et dont le sang est devenu virulent et puis a perdu sa virulence, a acquis une certaine immunité contre une nouvelle infection.

C'est pourquoi, le 3 janvier 1929, soit cinquante jours après la première inoculation de sang humain, le Macaque est réinoculé avec 10 cent. cubes de mélange de plusieurs sérums humains virulents. Il est saigné, par ponction du cœur, le lendemain et sept jours plus tard. Chaque fois un volontaire est inoculé avec le sérum provenant de la prise de sang. Dans les deux cas, on n'obtient aucun résultat. Le singe ne s'est pas réinfecté à la seconde inoculation de virus de dengue. Il a l'immunité. Au cours de toute cette observation le Macaque n'a présenté, à aucun moment, le moindre signe de maladie.

EXPÉRIENCE V. — Callitriche 1 ♂ (*Cercopithecus callitrichus* F. Cuvier).

Ce singe est inoculé à Paris, le 11 octobre 1928, sous la peau de la cuisse, avec 1 c.c. 5 de sérum (le virus est un mélange de différents sérums, les mêmes que ceux qui ont été utilisés pour l'inoculation du Papion n° 1).

Le 17 octobre, soit six jours après l'inoculation, prise de sang par ponction du cœur. Le 2 novembre, un volontaire est inoculé, à Athènes, avec 2 cent. cubes de sérum de ce sang, sous la peau du bras. Il ne réagit pas.

Le 19 octobre, nouveau prélèvement de sang du singe, par ponction du

cœur. 1 cent. cube de sérum de ce sang est inoculé à Athènes, à un volontaire, sous la peau du bras, le 2 novembre. Neuf jours plus tard, ce volontaire fait une dengue tout à fait typique et forte.

Le singe, pendant toute la durée de l'observation, n'a manifesté aucun symptôme de maladie (courbe 4).

EXPÉRIENCE VI. — Callitriche 2 ♂ (*Cercopithecus callitrichus* F. Cuvier).

Ce singe est inoculé à Athènes, le 13 novembre 1928, sous la peau, avec 4 cent. cubes de sérum de malade au deuxième jour de la dengue. Le sérum a été conservé sept jours au laboratoire.

Le 19 novembre, six jours après l'inoculation, saignée par ponction du

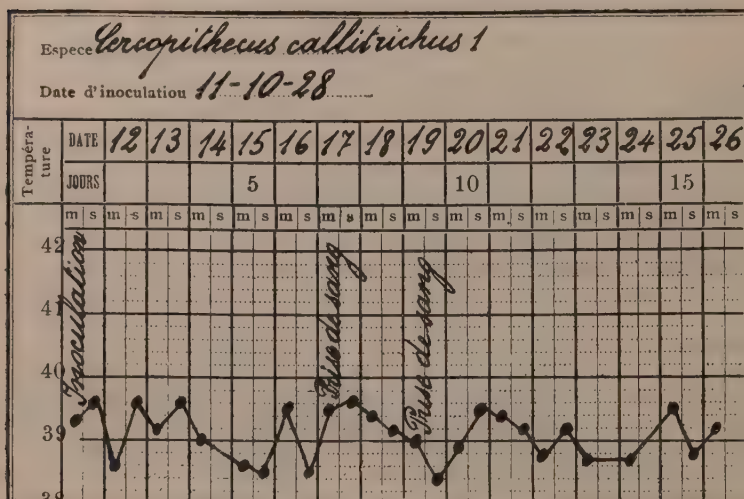


FIG. 10. — (Courbe 4). Courbe de température du *Callitriche 1*.

cœur. 2 cent. cubes de sérum provenant de cette saignée sont inoculés, le même jour, à un volontaire, en injection intraveineuse.

Cinq jours plus tard, la dengue se manifeste (c'est un fait d'observation constante que les injections intraveineuses, chez l'homme, comportent une incubation de la maladie beaucoup plus courte que les injections sous-cutanées).

Le 21 novembre, soit huit jours après l'inoculation, nouvelle saignée du singe par ponction du cœur.

Le 22 novembre, 2 cent. cubes de sérum de singe sont inoculés sous la peau à un volontaire qui, neuf jours plus tard, présente les premiers symptômes de dengue.

Le 27 novembre, soit quatorze jours après l'inoculation infectante, nouveau prélèvement de sang par ponction du cœur. Cette fois, le sérum inoculé à un volontaire se montra sans action. Le virus a disparu du sang.

Pour voir si l'affection qu'a eue le singe lui a conféré l'immunité, on réinocule l'animal, le 3 janvier 1929, cinquante et un jours après l'inoculation infectante, avec un mélange de plusieurs sérums virulents de malades

atteints de dengue. Le lendemain, 4 janvier, et sept jours plus tard, le 10 janvier, le Callitriche est saigné, toujours par ponction du cœur qu'il supporte fort bien. A chaque prélèvement, il est fait une inoculation à l'homme. Chaque fois cette inoculation a un résultat négatif. La première inoculation a donc donné au Callitriche une infection qui lui a conféré l'immunité.

Au cours de l'observation l'animal est resté en parfaite santé.

EXPÉRIENCE VII. — Callitriche 3 ♂ (*Cercopithecus callitrichus* F. Cuvier).

Un nouveau Callitriche est inoculé, le 27 novembre 1928, avec un mélange de sang du Cynomolgus et du Callitriche 2, sang provenant des prélèvements faits les 1^{er} et 3 décembre. Comme nous l'avons vu au cours des

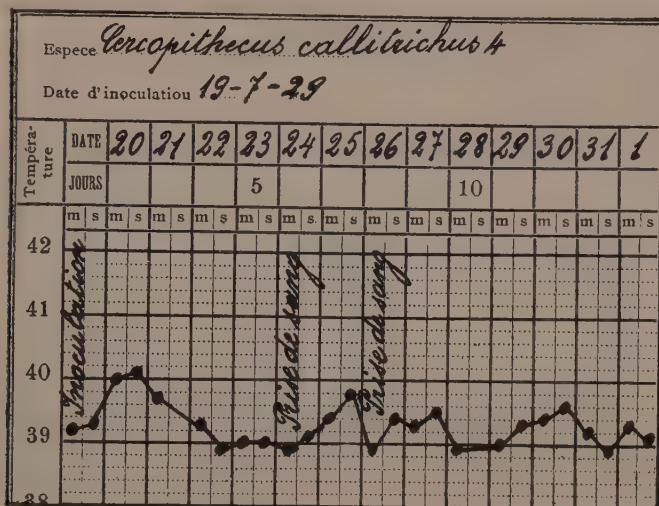


FIG. 11. — (Courbe 5). Courbe de température du *Callitriche* 4.

observations précédentes, ce sang s'est montré virulent pour l'homme.

Le 4^{or} et le 4 décembre, le Callitriche 3 est saigné par ponction du cœur. Chaque fois le sérum du sang est inoculé à un volontaire et chaque fois sans succès. Les sujets qui n'ont pas réagi sont inoculés ultérieurement avec du virus humain; ils font une dengue typique. Ils étaient donc réceptifs au moment où ils furent inoculés avec le sérum de Callitriche et cette inoculation ne leur a donné aucune immunité. Il faut en conclure que le sang du Callitriche n'était pas virulent.

Le 3 janvier 1929, le Callitriche 3 est réinoculé, cette fois avec du virus humain.

Le 4 janvier, un prélèvement de sang est fait, ce sang inoculé à un homme ne donne pas la dengue et ne confère pas l'immunité, comme le montra une inoculation d'épreuve.

Le 10 janvier, soit sept jours après la seconde inoculation, nouvelle prise de sang au Callitriche 3. Le sérum inoculé à un homme lui donne la dengue après une incubation de six jours.

Donc un singe *Callitriche*, inoculé avec du sang de *Callitriche* et de

Macaque infectant pour l'homme, n'a pas été infecté et n'a acquis aucune immunité.

Réinoculé avec du sérum virulent humain il s'est infecté. Son sang n'est devenu virulent qu'après plusieurs jours; donc il n'y a pas eu simplement conservation du virus inoculé, mais développement d'une infection qui, comme chez les animaux précédents, n'a jamais donné de symptômes cliniques.

EXPÉRIENCE VIII. — Callitriche 4 ♀ (*Cercopithecus callitrichus* F. Cuvier).

Le singe est inoculé, le 19 juillet 1929, sous la peau, avec 10 cent. cubes

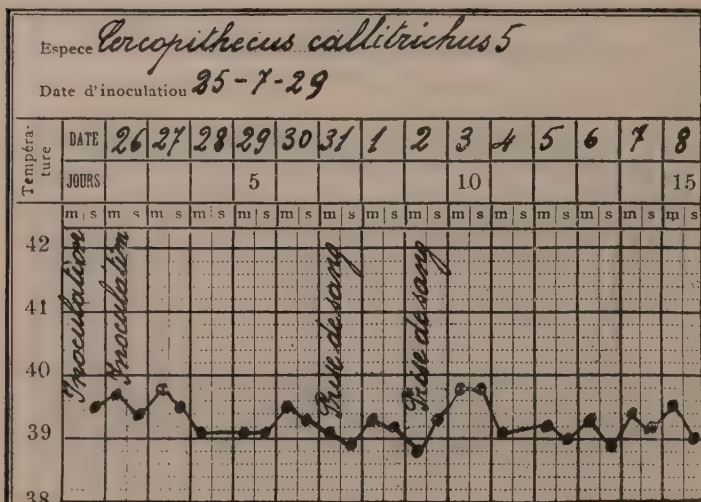


FIG. 12. — (Courbe 6). Courbe de température du *Callitriche* 5.

de sérum provenant de deux malades atteints de dengue, au deuxième jour de fièvre. L'un des sangs a été prélevé le 7, l'autre le 8 juillet.

Le 24 juillet, soit cinq jours après l'inoculation, ponction du cœur et prise de sang.

Le 25 juillet, 2 cent. cubes de sérum de ce sang sont inoculés sous la peau d'un volontaire. Cette inoculation reste sans effet.

Le 26 juillet, sept jours après l'inoculation, nouvelle prise de sang au singe. Le lendemain inoculation d'un volontaire, sous la peau, avec 3 cent. cubes de sérum recueilli. Le sujet présente les premiers symptômes de dengue huit jours plus tard.

Le singe n'a présenté aucun signe clinique de maladie (courbe 5).

Le sang a été examiné à plusieurs reprises et la numération globulaire a donné :

1° Le 19 juillet 1929, avant l'inoculation :

Globules rouges. 5.000.000
Globules blancs. 6.200

2° Le 24 juillet 1929, cinq jours après :

Globules rouges.	5.700.000
Globules blancs.	2.800

3° Le 25 juillet 1929, six jours après :

Globules blancs.	3.900
--------------------------	-------

4° Le 26 juillet 1929, sept jours après :

Globules blancs.	4.900
--------------------------	-------

5° Le 30 juillet 1929, onze jours après :

Globules blancs.	4.800
--------------------------	-------

EXPÉRIENCE IX. — Callitriche n° 5 ♀ (*Cercopithecus callitrichus* F. Cuvier).

Le singe est inoculé, le 25 juillet 1929, sous la peau, avec 3 cent. cubes de sérum de sang du Callitriche n° 4 (sérum qui ne s'est pas montré virulent pour l'homme ainsi qu'il est rapporté à l'observation précédente).

Le 26 juillet, réinoculation, sous la peau, de 3 c. c. 5 de sérum du Callitriche n° 4; le sang, comme on l'a vu, a été prélevé le jour même et s'est montré virulent pour l'homme.

Le 31 juillet, cinq jours après la deuxième inoculation, ponction du cœur, prélèvement et inoculation, le jour même, d'un volontaire avec 3 cent. cubes de sérum. Cette inoculation reste sans effet.

Le 2 août, sept jours après la deuxième inoculation de sérum virulent, nouvelle ponction du cœur et prise de sang. Cette fois encore inoculation d'un volontaire sous la peau, avec 3 cent. cubes de sérum de ce sang. Aucune réaction ne suit l'inoculation.

Pendant toute la durée de l'observation ce Callitriche n'a présenté aucun signe clinique de maladie (v. courbe 6).

Le sang examiné à plusieurs reprises a donné les chiffres suivants à la numération :

1° 25 juillet, avant l'inoculation :

Globules blancs.	11.200
--------------------------	--------

2° 30 juillet, cinq jours après l'inoculation :

Globules blancs.	9.100
--------------------------	-------

3° 31 juillet, six jours après l'inoculation :

Globules blancs.	8.200
--------------------------	-------

4° 5 août, onze jours après l'inoculation :

Globules blancs.	9.100
--------------------------	-------

Résumé et conclusions.

De l'exposé des diverses expériences que nous avons faites de transmission de la dengue aux animaux de laboratoire et aux singes inférieurs, on peut conclure que le chien et le lapin ne sont pas sensibles à l'infection; qu'exceptionnellement, le

rat blanc peut avoir présent dans son sang le virus qui lui a été inoculé plusieurs jours auparavant. Sur des documents aussi restreints que ceux que nous avons, il n'est pas possible de dire si le rat blanc fait une dengue inapparente ou conserve simplement dans son sang le virus qui lui a été inoculé.

Les singes, au contraire, paraissent avoir une sensibilité très nette au virus de la dengue et réaliser, de façon parfaite, ce que Ch. Nicolle et Ch. Lebaillly ont appelé une infection inapparente. A la suite de l'inoculation de virus de dengue, ils restent bien portants, ils ne font pas de fièvre et rien ne décèle qu'ils sont infectés. Cependant, le sang de ces animaux, prélevé du cinquième au huitième jour, se montre virulent pour l'homme. Il ne l'est plus douze jours après l'inoculation.

Il n'y a pas simplement conservation de virus, mais infection inapparente, comme peut en faire l'homme ou le cobaye, puisque le sang du singe n'est pas virulent immédiatement après l'inoculation, mais seulement cinq jours après. De plus, cette infection inapparente entraîne l'immunité. Cette immunité, ainsi qu'il ressort de deux de nos expériences, dure au moins cinquante jours.

Un fait qui est à rapprocher de celui que Nicolle et Lebaillly ont constaté dans le typhus du cobaye, c'est que, sous sa forme inapparente, la dengue paraît ne pouvoir se transmettre qu'à l'espèce sensible qui est l'homme. Nous avons déjà constaté le fait dans la dengue inapparente du cobaye (1).

Le sérum d'un singe atteint de dengue inapparente se montre virulent pour l'homme, il est sans action sur le singe auquel il ne donne ni dengue inapparente, ni immunité contre l'inoculation de sérum virulent humain.

Le fait est d'autant plus remarquable que la dengue conférée à l'homme par sérum de singe se montre aussi sévère que celle que l'on peut obtenir avec du virus humain.

Ces données ont été établies en expérimentant sur neuf singes : 1 Mangabey (*Cercocebus fuliginosus*), 2 Papions (*Papio cynocephalus*), 1 Macaque (*Cynomolgus fascicularis*) et 5 Cercopitèques (*Cercopithecus callitrichus*).

(1) On sait aussi que le virus rabique, peu pathogène pour les oiseaux, garde, après son passage par cerveau de coq ou de pigeon, toute sa virulence pour le lapin, bien qu'il soit très difficile, sinon impossible, de réussir des passages d'oiseau à oiseau (voir entre autres travaux ceux de Remlinger).

CHAPITRE III

L'IMMUNITÉ DANS LA DENGUE, LE POUVOIR PRÉVENTIF OU CURATIF DU SÉRUM DE CONVALESCENTS ET GUÉRIS DE DENGUE. L'ACTION DU SÉRUM ANTIAMARYLLIQUE ET DU SÉRUM ANTIPESTIQUE SUR LE VIRUS DE LA DENGUE

I. — La dengue donne-t-elle l'immunité?

Si l'on s'en rapporte aux données fournies par les médecins qui ont suivi des épidémies de dengue, il semble que cette maladie ne confère pas d'immunité ou une immunité très courte et très inconstante. Pour Legendre, par exemple, les rechutes sont presque la règle. Sur 7 cas qu'il observe au mois de juillet 1928, en Haute-Volta, il note 6 fois des rechutes à des intervalles de sept, onze, dix-neuf, trente et trente-cinq jours. Le septième malade avait eu la dengue l'année précédente. Siler, Hall et Hitchens considèrent que les rechutes ne sont pas rares. Ils admettent qu'à Manille, dans l'armée américaine, 30 p. 100 des soldats ayant eu la dengue font une rechute, 15 p. 100 font deux rechutes et seulement 7 p. 100 font une troisième rechute typique. A vrai dire, sur 18 cas qu'ils donnent de soldats ayant eu trois à quatre fois la dengue pendant les années 1922, 1923 et 1924, la plupart ne font des rechutes qu'après un temps assez long (quatre cent quarante-neuf jours dans un cas, fréquemment cent cinquante à deux cents jours). Dans certains cas, cependant, ils observent des rechutes après quelques jours : quatorze, trente, soixante jours. De plus, ces auteurs font quelques expériences d'inoculation de dengue à des volontaires ayant eu une première atteinte. Ils inoculent 0 c. c. 5 de sang virulent à 12 sujets guéris depuis quarante et un à cent vingt et un jours. Dans 5 cas, ils obtiennent une réinfection.

Ces faits cliniques et ces expériences sont fort précis encore que le diagnostic de dengue, comme l'on sait, ne soit pas toujours très concluant et que certaines manifestations fébriles de

causes variées : paludisme, fièvre de trois jours, etc., puissent en imposer pour des rechutes de dengue.

Certains auteurs, cependant, trouvent que la dengue confère une immunité sérieuse. C'est ainsi que Vassal et Brochet, qui ont observé une épidémie de dengue, en 1907, à bord du bateau *La Manche*, remarquent que les matelots qui ont échappé à la maladie avaient eu une première atteinte et que les officiers restés indemnes avaient été infectés l'année précédente à Madagascar.

En Grèce, et notamment à Athènes où l'épidémie de dengue commencée en 1927 a pris forme de pandémie en 1928, les médecins n'ont pas noté les récidives comme fréquentes. Tout au contraire, la plupart de ceux qui ont écrit sur le sujet s'accordent à reconnaître l'immunité manifestée par les malades de 1927, qui sont restés à Athènes en 1928. C'est ce que rapportent, entre autres, Copanaris, directeur de l'Hygiène, Macridis, inspecteur sanitaire au ministère de l'Hygiène, Apostolides, médecin de l'hôpital Evangelismos. Nous-mêmes, nous n'avons jamais vu de rechutes certaines, mais, par contre, dans un cas donné comme récidive, nous avons trouvé, dans le sang, l'hématozoaire de Laveran, et, dans un autre cas, nous avons diagnostiqué une tuberculose, diagnostic qu'a confirmé l'examen bactériologique du malade. Ajoutons, qu'en 1929, bien qu'il y ait eu quelques cas de dengue en Grèce, en particulier en Crète, il n'y a pas eu d'épidémie ni à Athènes, ni à Salonique, villes très éprouvées en 1928.

Il y a plus, les recherches expérimentales ont confirmé les données cliniques et épidémiologiques.

Manoussakis a montré que des sujets récemment guéris, ou guéris depuis deux mois, résistent à une inoculation infectante pour les témoins. Nous avons fait, nous-mêmes, des expériences pour éprouver l'immunité des sujets guéris de dengue depuis longtemps. Voici notre expérience : au mois de février 1928 nous avons inoculé de nombreux volontaires : 70 dont 25 ont fait une dengue typique. Nous avons pu retrouver à l'hôpital, où ils étaient restés pour le traitement d'une affection ancienne, 20 de ces sujets, en décembre 1928, soit dix mois après leur première atteinte. Aucun de ces anciens malades n'avait contracté à nouveau la dengue pendant l'épidémie des mois d'août

et septembre. Nous en avons réinoculé 9 avec de fortes doses de virus (2 cent. cubes de sérum de malades) infectantes pour les témoins : aucun n'a réagi.

Des faits observés par les hygiénistes et les cliniciens en Grèce, des expériences de Manoussakis et des nôtres, il résulte que la dengue peut conférer une immunité forte et de longue durée. Il était dès lors indiqué de tenter la vaccination contre la dengue. Nous donnons plus loin, en détail, les résultats de nos essais.

II. — Action du sérum ou du sang total des convalescents et guéris de dengue sur le virus.

Manoussakis, le premier, a montré que le sérum de malades convalescents ne protège pas contre la dengue, qu'il soit inoculé avant ou en même temps que le virus et qu'il soit injecté à faible dose (5 cent. cubes) ou à forte dose (15 cent. cubes), enfin, qu'il soit prélevé immédiatement après la défervescence, quelques jours ou un mois après. Nos expériences, fort nombreuses, — elles ont porté sur 29 sujets —, nous ont permis de confirmer entièrement celles de Manoussakis. Nous avons auparavant éprouvé l'action du sérum humain normal et du sérum de divers animaux sur le virus de la dengue. Voici quelques expériences :

1° SÉRUMS NORMAUX.

a) SÉRUM HUMAIN. — (Une inoculation faite plus tard au donneur du sérum a montré qu'il était réceptif à la dengue.)

Le 14 octobre 1928, on mélange 3 cent. cubes de sérum d'un homme n'ayant pas eu la dengue à 0 c. c. 5 de sérum virulent. Après vingt-quatre heures de contact, à la température du laboratoire, le mélange est inoculé, sous la peau, à un volontaire. Celui-ci fait la dengue.

b) SÉRUM DE VACHE. — Le 8 novembre 1928, 1 cent. cube de sérum humain virulent est dilué dans 6 cent. cubes de sérum de vache. Le mélange est mis à l'étuve à 37° pendant une heure, puis laissé six heures à la température du laboratoire,

ensuite inoculé sous la peau du bras d'un volontaire. Celui-ci fait la dengue.

c) SÉRUM DE CHEVAL. — Le 8 novembre, également, la même expérience que précédemment est faite, mais en remplaçant le sérum de vache par du sérum de cheval. Même résultat : le volontaire fait la dengue.

d) SÉRUM DE LAPIN. — Le 12 novembre 1928, nous mélangeons 1 cent. cube de sérum humain virulent à 40 cent. cubes de sérum frais de lapin. Après vingt-quatre heures de contact, à la température du laboratoire, le tout est inoculé, sous la peau, à un volontaire. Il réagit comme les autres.

Le sérum normal se montrant sans action sur le virus de la dengue, nous avons recherché, en variant les conditions d'expérience, si le sérum de convalescents, de guéris, de sujets réinoculés, après guérison, une ou plusieurs fois, avait quelque action sur le virus de la dengue. Voici nos expériences :

2° SÉRUMS DE GUÉRIS.

1° Le 10 octobre 1928, on mélange, à parties égales, du sérum virulent frais, provenant de plusieurs malades, avec du sérum d'anciens malades guéris depuis vingt, vingt-cinq et trente jours. Après vingt-quatre heures de contact, à la température du laboratoire, on inocule, par voie intraveineuse, deux volontaires, chacun avec 6 cent. cubes du mélange. Tous deux contractent la dengue.

2° Le 11 octobre 1928, même expérience, c'est-à-dire mélange à parties égales de virus et sérum de guéris, mais cette fois la dose inoculée, également à deux sujets, et par voie intraveineuse, est plus faible : 3 cent. cubes. Cette fois encore les deux sujets réagissent.

3° Le 23 octobre 1928, il est fait un mélange de 2 c. c. 5 de sérum d'un malade guéri depuis dix jours avec 1 c. c. 5 de sérum virulent. Après vingt-quatre heures de contact, le mélange est inoculé, par voie sous-cutanée, à un volontaire qui réagit.

4° Le 8 novembre, est fait un mélange de 6 cent. cubes de sérum d'un ancien malade guéri depuis plusieurs mois (le

sérum a été chauffé une demi-heure à 56°) avec 1 cent. cube de sérum virulent. Le mélange est mis une heure à l'étuve à 37°. Quatre heures plus tard, il est inoculé en totalité, par voie sous-cutanée, à un volontaire qui réagit cinq jours plus tard.

5° Même expérience que précédemment, avec les mêmes sérums et virus, mais sans que le sérum ait été chauffé à 56°. Même résultat : le volontaire réagit six jours après l'inoculation.

3° SÉRUMS D'ANCIENS MALADES GUÉRIS

ET RÉINOCULÉS UNE FOIS AVEC DU VIRUS DE LA DENGUE.

6° Le 10 octobre 1928, on fait un mélange, à parties égales, du sérum d'un ancien malade guéri et réinoculé sans résultat avec du virus de la dengue, avec le sérum d'un malade prélevé au deuxième jour. Le même jour, après quatre heures de contact à la température du laboratoire, nous inoculons, par voie intraveineuse, deux volontaires, chacun avec 5 cent. cubes du mélange. Les deux sujets réagissent.

7° Le 17 octobre, même expérience, mais cette fois le sérum virulent et le sérum de malades guéris et réinoculés est maintenu en contact, à la température du laboratoire, quarante-huit heures et les deux volontaires sont inoculés, par voie sous-cutanée, avec une dose plus forte, 3 cent. cubes du mélange; cependant ils réagissent.

8° Le 18 octobre également, nous faisons un mélange de sérum virulent et de sérum de guéri (de même provenance que celui de l'expérience précédente) mais dans des proportions différentes : virus, 1/2 cent. cube; sérum, 6 cent. cubes. Deux volontaires, inoculés sous la peau, chacun avec 6 c. c. 5 du mélange, réagissent.

9° Le 19 octobre, nous inoculons un mélange, fait quarante-huit heures auparavant, de sérum virulent et de sérum de guéri et réinoculé dans les proportions de virus 1 c. c. 5, sérum de guéri 5 cent. cubes. L'inoculation sous-cutanée, à deux volontaires, est positive.

10° Le 20 octobre, même expérience, avec le même mélange conservé trois jours à la température du laboratoire. Deux volontaires inoculés sous la peau, avec 2 c. c. 5 du mélange, réagissent.

11° Le 24 octobre, même expérience encore, mais en diminuant la dose de virus. 0 c. c. 5 de sérum virulent sont mélangés à 4 c. c. 5 de sérum d'ancien malade. L'inoculation est faite, par voie intraveineuse, à un volontaire. Elle est positive.

12° Le 21 octobre, du sérum d'anciens malades guéris et réinoculés est mélangé à du sérum virulent dans la proportion de 10 c. c. 5 de sérum et 1 c. c. 5 de virus. Le tout est mis à l'étuve à 37° pendant une heure, puis à la température du laboratoire pendant quatre heures. Deux volontaires sont inoculés, sous la peau, chacun avec 4 cent. cubes du mélange. Ils font la dengue.

13° Le 30 octobre également, même expérience, mais, cette fois, le sérum d'ancien malade a été chauffé une demi-heure à 56°. Deux volontaires, inoculés aux mêmes doses que précédemment, font également la dengue.

14° Le 20 novembre, nous mélangeons 7 cent. cubes de sérum d'ancien malade guéri et réinoculé à 1 cent. cube de sérum virulent, le mélange est mis au frigorigène, à 0°, pendant douze heures, puis inoculé à deux volontaires, par voie sous-cutanée; tous les deux font la dengue.

4° SÉRUMS D'ANCIENS MALADES GUÉRIS

ET RÉINOCULÉS DEUX OU TROIS FOIS AVEC DU VIRUS DE DENGUE.

15° Le 12 novembre, un mélange de 1 cent. cube de sérum virulent et de 7 cent. cubes de sérum provenant d'un ancien malade deux fois réinoculé, mélange maintenu quarante-huit heures à la température du laboratoire, est inoculé à un volontaire, par voie sous-cutanée, avec résultat positif.

16° Expérience faite dans les mêmes conditions, mais avec le sérum d'un ancien malade réinoculé trois fois avec du virus de dengue; le sujet inoculé fait la dengue.

17° Le 12 novembre, on mélange 1 cent. cube de sérum virulent et 7 c. c. 5 de sérum d'un ancien malade, trois fois inoculé, le mélange est mis à l'étuve à 37° pendant une heure, puis quatre heures à la température du laboratoire et enfin inoculé sous la peau d'un volontaire. Cette fois encore le volontaire réagit.

Il ressort de toutes ces expériences que le sérum de conva-

lescent ou ancien malade de dengue n'a aucune action sur le virus de la dengue. Les résultats sont négatifs, que le sérum ait été chauffé ou non chauffé; que le sérum ait été prélevé à la défervescence, quinze jours, un mois, dix mois après la guérison. Il l'est toujours, que le sérum provienne d'un ancien malade réinoculé une fois, deux et même trois fois avec de fortes doses de virus.

Le sérum d'anciens malades se montrant totalement privé d'anticorps, nous avons recherché si le sang total en était également dépourvu.

5° SANG TOTAL D'ANCIENS MALADES GUÉRIS DE DENGUE.

18° Le 25 décembre 1928, deux volontaires reçoivent sous la peau 10 cent. cubes de sang d'un ancien malade guéri depuis deux mois. Le 27 décembre, ils reçoivent encore 10 cent. cubes de sang total du même sujet guéri, puis les 29 et 31 décembre, 15 cent. cubes de sang total, enfin le 2 janvier 1929, ils sont éprouvés par inoculation, sous la peau, de 2 cent. cubes de sérum virulent. Ils réagissent et font la dengue.

19° Nous modifions alors notre technique en inoculant du sang prélevé à différentes dates, après la convalescence. Trois volontaires sont inoculés sous la peau, les 14, 15 et 17 janvier, chaque fois avec 8 cent. cubes de sang total provenant de deux individus guéris de dengue depuis deux mois. Ensuite, les 18, 19 et 20 janvier, ils reçoivent encore 8 cent. cubes de sang total provenant de deux malades guéris depuis trois jours. Le 22 janvier, après ces six injections de sang, les trois volontaires sont éprouvés chacun par inoculation de 3 cent. cubes de sérum virulent sous la peau. Tous les trois font de la dengue.

Il ressort de ces expériences et des précédentes que, bien que la dengue confère une certaine immunité, le sérum ou le sang total d'anciens malades, même réinoculés, ne possède aucun pouvoir virulicide et ne possède aucun pouvoir préventif vis-à-vis d'une infection expérimentale.

III. — Action du sérum anti-amaryllique et du sérum de convalescent de fièvre jaune sur le sérum de la dengue (1).

Siler, Hall et Hitchens, à la suite de leurs recherches sur la dengue, font ressortir, les premiers, les étroites affinités qui rapprochent cette maladie de la fièvre jaune. Depuis, bien d'autres auteurs, qui ont pu observer les formes graves de la dengue, avec ictère, hémorragies, vomissements noirs, albuminurie, etc., sont revenus sur la question et ont suggéré que, non seulement il y avait probablement étroite parenté entre les deux virus mais que, peut-être, la dengue n'était qu'une forme atténuée de la fièvre jaune, fixée dans son caractère bénin.

Nous avons cherché à établir le bien ou mal fondé de cette hypothèse en faisant agir sur le virus de la dengue soit du sérum anti-amaryllique, préparé sur animaux, soit du sérum de convalescent de fièvre jaune.

1° ACTION DU SÉRUM ANTI-AMARYLLIQUE.

A. Pettit et Stephanopoulo, expérimentant avec le virus de la fièvre jaune, ont établi que, non seulement le sérum du singe sensible à ce virus (*Macacus rhesus*), mais que celui d'autres espèces encore (Papions, Hamadryas, Cercocèbes), peut acquérir des propriétés neutralisantes et immunisantes marquées, lorsque l'animal a reçu plusieurs injections intrapéritonéales de foie virulent. Ces auteurs ont de même établi que le cheval, inoculé à plusieurs reprises avec du foie virulent, peut fournir un sérum neutralisant et immunisant. Ce sérum peut neutraliser au moins son volume ou le double de son volume de foie virulent après un contact d'environ trente minutes.

C'est sur ces données que nous nous sommes appuyés pour faire nos expériences. Le sérum que nous avons utilisé est celui-là même qu'a préparé A. Pettit et qu'il a bien voulu mettre à notre disposition. Nous avons aussi préparé un sérum anti-

(1) Expériences faites en collaboration avec P. Giroud.

amaryllique avec le lapin suivant la technique que voici : un fragment de foie de *Macacus rhesus*, infecté avec une souche de virus amaril, est prélevé le 19 octobre 1928. Il est conservé à la glacière, puis broyé en présence de sable de Fontainebleau. On met le produit de broyage dans 50 cent. cubes d'eau physiologique contenant 3/100 de centimètre cube de formol à 40 p. 100. On laisse décanter et on met l'extrait à la glacière. Trois injections intrapéritonéales sont faites au lapin, à dix jours d'intervalle. La première injection est de 5 cent. cubes, la seconde et la troisième de 10 cent. cubes. Le sang est recueilli dix jours après la dernière injection, le début de coagulation est attendu. Le sérum est recueilli après centrifugation.

Enfin, à titre de contrôle, nous avons également fait agir, sur le virus de la dengue, un sérum actif contre un autre virus filtrant, le virus contre la peste porcine (1).

a) SÉRUM ANTI-AMARYLLIQUE DE CHEVAL :

EXPÉRIENCE 1. — Le 8 novembre 1928, un volontaire est inoculé sous la peau avec un mélange de 6 cent. cubes de sérum anti-amaryllique et 1 cent. cube de sérum humain virulent. Le mélange a été maintenu une heure à l'étuve à 37° et trois heures à la température du laboratoire. Le sujet réagit dix jours après l'inoculation.

EXPÉRIENCE 2. — Le 19 décembre, un autre volontaire reçoit, sous la peau du flanc droit, 20 cent. cubes de sérum anti-amaryllique et, sous la peau du bras gauche, 2 c. c. 5 de sérum humain virulent. Huit jours plus tard la dengue se déclare.

EXPÉRIENCE 3. — Le 12 janvier 1929, un volontaire reçoit, sous la peau du flanc droit, 30 cent. cubes de sérum anti-amaryllique ; le lendemain, 13 janvier, il est inoculé, sous la peau, avec 4 cent. cubes de sérum virulent. Neuf jours plus tard la dengue apparaît.

b) SÉRUM ANTI-AMARYLLIQUE DE LAPIN ET DE CHEVAL :

EXPÉRIENCE 4. — Le 19 décembre 1928, R... reçoit sous la peau un mélange de 10 cent. cubes de sérum anti-amaryllique de lapin et 10 cent. cubes de sérum anti-amaryllique de cheval. Le lendemain, 20 décembre, R... est inoculé, sous la peau, avec 2 cent. cubes de sérum virulent. Il réagit sept jours après.

(1) Ce sérum a été préparé par le Dr L. Blaizot et nous a été fourni par lui. La technique de sa préparation est donnée dans le travail de cet auteur que nous citons à la bibliographie.

c) SÉRUM ANTI-AMARYLLIQUE DE LAPIN :

EXPÉRIENCE 5. — Le 19 décembre 1928, Cac... reçoit sous la peau 10 cent. cubes de sérum anti-amaryllique de lapin. Le 20 décembre, il est inoculé avec 2 cent. cubes de sérum virulent et, lui aussi, réagit après sept jours.

2° ACTION DU SÉRUM ANTIPESTE-PORCINE.

EXPÉRIENCE 6. — Le 19 décembre, également, un volontaire est inoculé, sous la peau du flanc, avec 20 cent. cubes de sérum contre la peste porcine ; le lendemain, il est inoculé avec 2 cent. cubes de sérum virulent. Sept jours plus tard il a la dengue.

La conclusion à tirer des expériences que nous venons de résumer est que le sérum anti-amaryllique, si actif contre le virus de la fièvre jaune, se montre dépourvu d'action neutralisante et d'action préventive vis-à-vis du virus de la dengue. Il était utile de confirmer ces faits en utilisant comme sérum anti-amaryllique du sérum de convalescent de fièvre jaune.

3° ACTION DU SÉRUM DE CONVALESCENT DE FIÈVRE JAUNE.

En 1903, Marchoux, Salimbeni et Simond ont montré que le sérum de convalescents de fièvre jaune donne, à l'homme, une forte immunité contre l'inoculation expérimentale. Plus tard, Stokes, Baker et Hudson, puis Hudson, Bauer et Philip, ont montré que ce sérum de convalescents protège le singe (*Macacus rhesus*), même à faible dose (de 0 c. c. 1 à 1 c. c. 3) contre une inoculation sévère de virus amaril. C'est en partant de ces faits que nous avons recherché l'action du sérum de convalescents de fièvre jaune sur le virus de la dengue. Nous avons pu nous procurer de ce sérum grâce à l'amabilité de notre collègue H. de Beaurepaire-Aragao qui a bien voulu nous envoyer quelques sérums. Voici nos expériences :

EXPÉRIENCE 1. — Un sujet volontaire reçoit, sous la peau du flanc droit, le 15 juillet 1929, 2 cent. cubes de sérum de convalescent de fièvre jaune, prélevé le 3 mai. En même temps il est inoculé, à l'autre flanc, avec 1 cent. cube de sérum virulent de malade atteint de dengue. Neuf jours plus tard, la dengue est manifeste.

EXPÉRIENCE 2. — Un autre sujet volontaire est inoculé, le 16 juillet, avec un mélange de 4 cent. cubes de sérum de convalescent de fièvre jaune, pré-

levé le 3 mai, et de 4 cent. cube de sérum virulent provenant d'un malade atteint de dengue. Le contact entre le sérum de convalescent et le sérum virulent a été de une heure à 37° et de trois heures à 25°C. Cette fois encore, le sérum de convalescent de fièvre jaune reste sans effet. Le sujet volontaire présente les premiers symptômes de dengue le 23 juillet.

Résumé et conclusions.

1° Des faits observés par les hygiénistes et les cliniciens en Grèce, des expériences de Manoussakis et des nôtres, il semble bien établi que la dengue confère une immunité forte et de longue durée. Les constatations épidémiologiques de 1929, faites en Grèce, ont confirmé les conclusions tirées des observations et expériences de 1928.

2° Le sérum des convalescents, des anciens malades guéris de dengue, prélevé peu de jours après la chute de la fièvre ou longtemps après (de quelques jours à dix mois), est sans action sur le virus de la dengue. Ce sérum ne confère aucun pouvoir préventif aux sujets auxquels il est inoculé. La réinoculation, à une, deux ou trois reprises, des anciens malades ne modifie pas les propriétés de leur sérum; le sang total des anciens malades, comme le sérum, ne possède ni pouvoir virulicide, ni pouvoir préventif.

3° Le sérum anti-amaryllique, préparé par inoculation et réinoculation d'animaux, avec du virus de fièvre jaune, n'a aucune action sur le virus de la dengue et aucun pouvoir préventif vis-à-vis de lui.

Le sérum de malades guéris de fièvre jaune n'a aucune action sur le virus de la dengue ni aucun pouvoir préventif vis-à-vis de ce virus.

CHAPITRE IV

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DU VIRUS DE LA DENGUE

Dans ce chapitre nous ne traiterons que les points que nous avons étudiés et sur lesquels nous apportons quelques données nouvelles. Nous ne dirons donc rien de la filtrabilité du virus de la dengue, filtrabilité établie par toutes les recherches

récentes, ni rien de la conservation du virus hors de l'organisme, que nous avons étudiée dans un précédent travail, ni enfin rien de la nature même du virus ni de nos essais de culture. Disons simplement que, malgré de très nombreux examens, nous n'avons pu retrouver le Spirochète trouvé par Couvy et que la résistance à certains agents chimiques du virus de la dengue est peu en faveur de sa nature spirochétienne et notons que, malgré de très nombreux essais de culture, nous n'avons obtenu aucun résultat.

Nous ne rapporterons donc que nos expériences ayant trait à l'action des agents physiques et des agents chimiques sur le virus de la dengue. Nous avons fait de nombreuses expériences, surtout pour étudier les agents chimiques, et cela en partie dans le but d'arriver à obtenir une action sur le virus telle que nous puissions le transformer en vaccin.

I. — Influence des agents physiques.

1° TEMPÉRATURE.

Manoussakis a montré que le virus chauffé à 50° est détruit et qu'un sujet inoculé avec ce virus chauffé n'est pas immunisé.

2° DESSICCATION.

A l'encontre de tant de virus filtrables, la dessiccation semble ne pas conserver le virus de la dengue.

EXPÉRIENCE 1. — 10 cent. cubes de sang sont prélevés à un malade en pleine fièvre de dengue. Le sang est étalé en couche très mince, dans des boîtes de Pétri qui sont mises dans l'appareil à vide sulfurique. Puis le sang desséché en paillettes est enfermé en ampoules scellées et gardées à 0°. Un volontaire est inoculé avec du virus desséché représentant 5 cent. cubes de sang et dilué en eau physiologique, ce virus a été conservé quatre-vingt-quinze jours à la glacière. Le sujet ne réagit pas.]

EXPÉRIENCE 2. — Le 24 février, on fait un mélange de 3 cent. cubes de sérum virulent et de 2 cent. cubes de noir animal stérile. La pâte ainsi formée est étalée, en couche mince, sur le fond [d'une boîte de Pétri et mise à dessécher au vide sulfurique.

Le 26 février, le mélange est complètement desséché. Le 27, il est mis en ampoules scellées, à l'appareil frigorifique à 0°. Le 15 avril, soit quatre-

vingt-dix-huit jours plus tard, le virus desséché est remis en dilution dans de l'eau physiologique et inoculé à un volontaire par voie sous-cutanée. Celui-ci ne réagit pas et n'acquiert pas l'immunité.

3° DIALYSE.

Il a été démontré que plusieurs virus filtrables sont précipités avec les globulines par la dialyse. Nous avons recherché si le virus de la dengue se comportait de même, soit en le soumettant à la dialyse, soit en précipitant les globulines par le sulfate de magnésie. Dans quelques cas nous avons obtenu des résultats précis, c'est-à-dire que les globulines du sérum se sont montrées infectantes et les sérines non, mais dans d'autres expériences les résultats ont été plus douteux et, comme les expériences de dialyse sont délicates, il ne nous est pas permis d'affirmer que quelque cause d'erreur n'est pas intervenue pour modifier les résultats. La perte de notre virus ne nous a pas permis de trancher la question avec toute la rigueur désirable et tout en considérant que, probablement, le virus de la dengue est une globuline ou est adsorbé par les globulines, nous ne pouvons l'affirmer catégoriquement.

II. — Influence des agents chimiques.

1° SUBSTANCES ABSORBANTES.

Ces substances ne modifiant pas l'activité du virus nous avons expérimenté avec les substances suivantes :

a) CARBONATE DE CALCIUM PRÉCIPITÉ. — Du carbonate de calcium est ajouté à du sérum virulent jusqu'à consistance sirupeuse. Le tout est laissé trois jours à la température du laboratoire et 4 cent. cubes sont inoculés, le 26 novembre, sous la peau, à un volontaire qui réagit le 3 décembre.

b) TAPIOCA. — Du tapioca stérile est mélangé, dans les mêmes conditions que précédemment, à du sérum virulent, le mélange est laissé vingt-quatre heures à la température du laboratoire et 2 cent. cubes sont inoculés sous la peau, à un volontaire et

4 cent. cubes à un autre volontaire; tous deux font la dengue.

Une troisième expérience est faite en laissant en contact tapioca et sérum virulent pendant trois jours à la température du laboratoire. Cette fois encore le virus n'est pas neutralisé, le sujet réagit.

2° BILE.

La bile, qui détruit un certain nombre de virus filtrables, a une action très forte sur le virus de la dengue qu'elle détruit rapidement, même à faible concentration (1). Dans nos premières expériences, nous faisons agir de la bile dans la proportion de 1/5 de bile par rapport au sérum virulent et nous laissons le contact, soit à la glacière, soit à l'étuve à 37°, pendant vingt-quatre heures. Dans tous ces cas le virus était détruit. Nous avons abaissé le temps de contact à quatre heures, à une heure, puis à cinq minutes. Le virus était encore et sans exception détruit. Nous avons alors abaissé le taux de la bile jusqu'à n'être plus que 1/15 par rapport au sérum virulent. Et dans ces conditions, même avec un temps de contact qui ne dépasse pas cinq minutes, le virus est *toujours détruit*.

Au total, nous avons fait 60 expériences, 60 inoculations sans résultat, avec un mélange de bile et de virus dont le taux allait de 1/5 à 1/15 de bile par rapport au sérum virulent.

Au-dessous de 1/15, à 1/20 la bile ne détruit le virus de la dengue qu'après un laps de temps de un quart d'heure à vingt minutes; au-dessous de ce laps de temps, le virus n'est pas détruit, s'il est frais, mais sa virulence n'est pas constante. C'est sur cette donnée que nous avons basé nos essais de vaccination que nous exposons au chapitre suivant.

3° SAVON.

Pensant que l'action de la bile était due surtout aux sels biliaires, nous avons étudié l'action du savon sur le virus de la dengue. Une émulsion de savon au 1/50, neutralisée à l'acide lactique, est mélangée, à volumes égaux, à du sérum virulent. Après vingt-quatre heures de contact, 8 cent. cubes du mélange

(1) Il s'agit de la bile de bœuf.

sont inoculés à un volontaire, sous la peau, il ne réagit pas. Une autre expérience, faite dans les mêmes conditions, mais en ne laissant savon et virus en contact que trois heures, donne le même résultat. Le sujet inoculé ne réagit pas.

Ajoutons que, nous basant sur l'action qu'a la solution de savon neutralisée sur le virus de la dengue, nous avons fait quelques essais de traitement par injection de solution de savon, au 1/50 et neutralisée, soit par voie sous-cutanée, soit par voie intraveineuse. Nous n'avons observé aucun résultat appréciable.

4° SELS BILIAIRES.

L'action de la bile sur certaines bactéries et sur les virus filtrants paraît bien due aux sels biliaires, qui sont, en moyenne, dans la proportion de 16 p. 1.000; c'est ce que démontre l'action qu'ont ces sels, par exemple, sur le virus de l'herpès. Il était indiqué de rechercher ces mêmes faits avec le virus de la dengue. Or les expériences que nous avons pu faire n'ont pas confirmé nos prévisions. Alors que la bile de bœuf, qui contient environ 16 p. 1.000 de sels biliaires, tue le virus de la dengue lorsque la bile est mélangée au sérum dans la proportion de 1/10 par exemple, c'est-à-dire au taux final de 0,16 p. 100 de sels biliaires, nous n'avons pas détruit le virus de la dengue en y ajoutant des sels biliaires dans la proportion de 0,80 p. 100, c'est-à-dire en y ajoutant cinq fois plus de sels biliaires que n'en contenait le mélange bile-sérum virulent. Voici les expériences :

EXPÉRIENCE 1. — 3 juin 1929. Une solution de taurocholate de soude dans l'eau distillée, à 4 p. 100, est ajoutée à du sérum virulent dans la proportion : taurocholate de soude 0,3, sérum 6 cent. cubes, ce qui donne 0,2 p. 100 de sel biliaire. Le contact est maintenu quinze minutes, puis, le tout, inoculé à deux volontaires, sous la peau; tous deux réagissent.

EXPÉRIENCE 2. — Le 6 juin, même expérience avec une solution, en eau distillée, de taurocholate de soude à 4 p. 100.

Trois dixièmes de centimètre cube de cette solution sont ajoutés à 6 cent. cubes de sérum virulent (0,2 p. 100 de taurocholate au total) et le tout, après contact de quinze minutes, inoculé à un volontaire qui réagit.

EXPÉRIENCE 3. — 12 juillet. Une solution de taurocholate de soude à 8 p. 100 est ajoutée à du sérum virulent dans la proportion de 1 cent. cube de solution de taurocholate de soude pour 9 cent. cubes de sérum, ce qui donne

une solution de taurocholate à 0,8 p. 100. Après contact de quinze minutes, inoculation de deux volontaires. Tous deux réagissent.

EXPÉRIENCE 4. — 12 juillet. Nous répétons l'expérience, cette fois avec le glycocholate de soude. Solution à 8 p. 100, mélange de 1 cent. cube de cette solution à 9 cent. cubes de sérum, contact quinze minutes, et inoculation d'un volontaire qui réagit.

EXPÉRIENCE 5. — 12 juillet. Enfin, nous faisons encore la même expérience, mais avec un mélange des deux sels biliaries. Soit une solution de taurocholate de soude à 8 p. 100, une solution de glycocholate de soude à 8 p. 100. A 9 cent. cubes de sérum virulent nous ajoutons 0 c. c. 5 d'une solution et 0 c. c. 5 de l'autre. Contact quinze minutes, et inoculation d'un volontaire qui, lui aussi, réagit.

5° CHOLESTÉRINE.

Les sels biliaries, aux taux ou à un taux supérieur à celui de leur solution dans la bile, s'étant montrés sans action sur le virus de la dengue, dans les conditions où la bile le détruit, nous avons recherché si la cholestérine, si peu probable *a priori* que parût la chose, avait une action sur le virus. On sait que dans la bile il y a 0,2 à 0,5 de cholestérine pour 100. C'est à ce dernier taux que nous avons fait notre dilution de cholestérine pour expérimenter. Voici l'expérience :

Le 3 juin 1929, une solution de cholestérine à 2 p. 100 dans l'huile stérile est mélangée à du sérum virulent dans la proportion de 1 cent. cube de solution de cholestérine pour 3 cent. cubes de sérum, soit 0,5 de cholestérine pour 100. Le mélange, inoculé à un volontaire, après quinze minutes de contact, lui confère la dengue (1).

6° ACIDES GRAS.

a) ACIDE LACTIQUE. — Au taux de 1,6 p. 100 il détruit le virus de la dengue ainsi qu'il ressort des expériences suivantes :

1° 22 janvier 1929. 2 cent. cubes d'une solution d'acide lactique au 1/20 sont mélangés à 4 cent. cubes de sérum virulent. Après un contact de dix minutes le tout est inoculé sous la peau à un volontaire qui ne réagit pas. Le même virus, sans acide lactique, s'est montré virulent pour un témoin.

2° Le 9 mai 1929, même expérience, dilution au même taux. Le sujet inoculé ne réagit pas.

(1) La solution en huile de la cholestérine n'étant pas miscible au sérum, il est possible que la cholestérine n'ait pas eu d'action directe sur le virus. L'expérience est à refaire en mélangeant la cholestérine aux sels biliaries.

b) ACIDE OLÉIQUE ET ACIDE BUTYRIQUE. — Ces acides, mélangés au sérum virulent, le neutralisent rapidement ainsi qu'il ressort des expériences suivantes :

Deux volontaires sont inoculés avec des sérums virulents auxquels a été ajouté, à l'un 0,5 d'acide oléique et, à l'autre, 0,5 d'acide butyrique. Le contact a été maintenu cinq minutes.

Les deux sujets restent indemnes, tandis qu'un témoin, inoculé avec le même sérum, mais pur, réagit. Les deux volontaires n'avaient pas l'immunité, car, éprouvés un mois et demi plus tard avec du sérum virulent, ils font l'un et l'autre la dengue.

7° MATIÈRES COLORANTES.

a) LE ROUGE NEUTRE mis en contact avec du sérum virulent, à la concentration de 1/500 et laissé à la lumière diffuse pendant sept heures, ne détruit pas le virus. Un sujet, inoculé avec 3 cent. cubes de ce mélange, réagit.

b) LE VIOLET DE GENTIANE a une action plus marquée, mais inconstante. Un sujet, inoculé avec 3 cent. cubes de sérum contenant du violet dans la proportion de 1/500, ne contracte pas la dengue. Le mélange a été laissé sept heures à la lumière diffuse. Un témoin, inoculé avec le même sérum, sans violet de gentiane, a réagi. Par contre, un autre volontaire, inoculé un mois plus tard avec un mélange au 1/500 de violet de gentiane et sérum, mis à la lumière diffuse pendant sept heures, a réagi.

8° FORMOL.

Le virus de la dengue offre une assez grande résistance au formol ainsi qu'en témoignent les expériences suivantes :

1° Le 27 décembre, on ajoute à 4 cent. cubes de sérum virulent 0,5 d'une solution de formol au 1/100, soit une teneur finale en formol de 1 p. 800. Le contact est maintenu cinq heures et le tout inoculé sous la peau à un volontaire qui fait quelques jours plus tard de la dengue.

2° Le 4 janvier, on ajoute à 3 cent. cubes de sérum virulent 0 c. 5 d'une solution de formol au 1/100, soit une teneur finale de formol de 2 p. 1.000. Cinq heures plus tard, un volontaire reçoit, sous la peau, les 3 c. c. 5 du mélange et il contracte la dengue.

3° Le 8 janvier, on mélange 6 cent. cubes de sérum virulent et 3 cent. cubes d'une solution de formol au 1/100, ce qui donne 3 gr. 33 de formol pour 1.000. Après une heure de contact, inoculation du mélange par voie sous-cutanée à un volontaire. Il fait la dengue.

9° COMPOSÉS DU MANGANÈSE.

a) LE CHLORURE DE MANGANÈSE détruit le virus de la dengue. Le mélange de 1 cent. cube de solution de chlorure de manganèse à 50 p. 100 et de 2 cent. cubes de sang total défibriné, laissé quelques heures en contact, perd sa virulence. Un sujet inoculé avec ce produit n'a pas réagi. Epruvé quelques mois plus tard, il s'est montré sensible au virus de la dengue. Un autre sujet, inoculé avec le mélange chlorure de manganèse à 50 p. 100 1 cent. cube et sang total 4 cent. cubes, a également réagi (1).

b) PERMANGANATE DE POTASSE. — Nous avons fait une seule expérience, à forte dilution. Un volontaire a été inoculé avec un mélange de 4 cent. cubes de sang défibriné et de 1 cent. cube d'une solution à 1 pour 1.000 (solution finale 1 p. 5.000), contact cinq heures. Le volontaire a fait la dengue.

10° LUGOL.

Le virus de la dengue est assez résistant au Lugol :

1° Le contact, pendant cinq minutes, de 1 cent. cube de Lugol et de 4 cent. cubes de sérum virulent ne neutralise pas ce dernier. Le sujet inoculé avec le mélange fait la dengue.

2° Un mélange de teneur presque aussi forte en Lugol résiste plusieurs heures : 0 c. c. 4 de Lugol sont mélangés à 2 cent. cubes de sérum virulent et le contact dure cinq heures. Ce mélange inoculé à un volontaire lui donne la dengue.

11° ALCOOL.

Vis-à-vis de l'alcool, également, le virus de la dengue montre une certaine résistance. Dans une expérience nous constatons

(1) Le chlorure de manganèse, dont l'action est peut-être très complexe, modifie le pH fortement. Ainsi : un sérum de pH 7,8, additionné de chlorure de manganèse en solution à 50 p. 100 dans la proportion de 1 p. 2, passe au pH 6,7. Un sérum de pH 7,9, additionné de la même solution de chlorure de manganèse, dans la proportion de 1 p. 4, passe au pH 6,9. Peut-être cette modification acide suffit-elle à détruire le virus.

que 0 c.c. 2 d'alcool à 95° ne neutralisent pas 4 cent. cubes de sérum virulent, après un contact de cinq minutes. Dans une autre expérience une dose beaucoup plus forte d'alcool reste également sans effet. Nous mélangeons 0 c.c. 5 d'alcool à 95° à 2 cent. cubes de sérum virulent. Après un contact de cinq minutes, nous inoculons le mélange à un volontaire qui fait la dengue quelques jours plus tard.

12° SUBSTANCES VARIÉES.

a) QUININE. — Une expérience. Le virus est neutralisé. 1 cent. cube d'une solution de sel de quinine à 20 p. 100, ajoutée à 2 cent. cubes de sang, détruit le virus. Le sujet inoculé ne réagit pas; éprouvé deux mois plus tard, il fait la dengue.

b) EXTRAIT HYPOPHYSAIRE TOTAL. EXTRAIT THYROÏDIEN. ADRÉNALINE. INSULINE. — L'extrait hypophysaire total et l'extrait thyroïdien ajoutés au sérum virulent, dans la proportion de 4 cent. cubes (représentant l'extrait de 1 gramme d'organes frais) pour 4 cent. cubes de sérum, ne détruisent pas le virus.

De même, une solution d'adrénaline au 1/1.000, ajoutée à volume égal à du sérum virulent, est sans action.

Enfin, le mélange de 45 unités d'Insuline Byla et de 4 cent. cubes de virus, en contact pendant une heure, n'a pas donné la dengue. Il est impossible sur une seule expérience de tirer une conclusion ferme.

Résumé et conclusions.

De toutes les expériences que nous venons de résumer dans ce chapitre, on peut tirer les données suivantes :

1° Le virus de la dengue n'est pas conservé par la dessiccation;

2° Il est probable que ce virus est lié à la globuline du sérum, soit qu'il soit lui-même une globuline, soit qu'il soit adsorbé par la molécule globuline;

3° Les substances absorbantes ne le modifient pas;

4° Il est tué par la bile au taux de 1/5 à 1/15, même après

un contact très court, de cinq minutes. Il n'est détruit par la bile au 1/20 qu'après un contact d'au moins un quart d'heure;

5° Bien que détruit par la bile, le virus de la dengue n'est pas détruit par les sels biliaires seuls ou associés, ni par la cholestérine, et cela même à des taux de concentration supérieurs à ceux qui existent dans la bile normale;

6° Les acides gras neutralisent le virus de la dengue;

7° Le virus de la dengue résiste fortement aux matières colorantes, au formol, à l'alcool et au Lugol;

8° Il est détruit par le chlorure de manganèse et la quinine;

9° L'hypophysine, la thyroïdine et l'adrénaline sont sans action sur lui.

CHAPITRE V

LA VACCINATION CONTRE LA DENGUE

Bien qu'affection en général bénigne pour l'individu, la dengue peut devenir, pour la collectivité, un danger redoutable lorsqu'elle devient pandémie.

Sa facilité et sa rapidité d'extension, dans les régions où abondent les Stégomyies, fait que personne ou presque n'échappe à l'atteinte de la maladie, et nous avons vu, à Athènes, pendant l'été de 1928, quelles conséquences désastreuses peut avoir une épidémie de dengue. Il y a donc intérêt à limiter l'extension de l'épidémie, non seulement par des mesures de prophylaxie et de lutte contre les Stégomyies, mais aussi par la vaccination si celle-ci est réalisable.

A la vérité, une telle vaccination semble *a priori* assez difficile à réaliser puisque, d'une part, le sérum des convalescents ne confère aucune protection contre l'infection et que, d'autre part, le virus tué, que ce soit par des agents physiques ou des agents chimiques, perd toute propriété antigénique et ne confère, lui non plus, la moindre résistance contre l'infection. La seule méthode de vaccination à employer apparaît donc être la vaccination par un virus vivant mais atténué. C'est à la solution de ce problème que nous avons fait converger nos recherches sur la transmission de la dengue aux animaux et sur l'action de diverses substances chimiques sur le virus.

Nous avons vu que le virus passé par animaux donne la dengue ou ne confère ni infection ni protection et que la plupart des substances chimiques ou bien sont sans action sur le virus ou bien le détruisent et lui enlèvent toute valeur antigénique.

Nous n'insistons pas sur les nombreuses tentatives de vaccination faites avec le virus de dengue soumis aux différents agents chimiques que nous avons énumérés. Toutes ont échoué sauf celles que nous avons faites avec le virus bilié. Ce ne sont que les résultats obtenus par cette dernière méthode que nous présenterons ici.

I. — Action de la bile sur le virus de la dengue.

Nous avons vu que la bile a une action puissante sur le virus de la dengue comme elle en a sur d'autres virus filtrables, qu'elle détruit, même à faible concentration. Nos premières expériences ont été faites avec du virus bilié contenant $1/5$ à $1/10$ de bile — le virus étant toujours du sérum de malade et la bile d'origine bovine —; le contact était maintenu d'abord vingt-quatre heures, soit à l'étuve à 37° , soit à la température du laboratoire, soit à 0° .

Aucun des sujets inoculés avec le virus bilié n'a réagi. Nous avons abaissé le temps de contact à quelques heures, puis à quelques minutes, cinq minutes exactement, et, cette fois encore, le virus a été détruit; aucun des inoculés n'a fait de dengue, même lorsque le taux de bile, par rapport au virus, a été abaissé jusqu'à $1/15$. Cette première série d'expériences a porté sur 60 sujets dont aucun n'a contracté la dengue alors que les témoins inoculés avec le même virus mais non bilié ont réagi et fait une dengue typique.

En abaissant le taux de bile à $1/20$, nous avons constaté que le virus n'était tué que si le contact avec la bile était de un quart d'heure ou plus; au-dessous de ce laps de temps l'infection est presque la règle, c'est-à-dire que le virus est encore vivant, ainsi que le montrent les résultats positifs que l'on observe. Il arrive cependant qu'un certain nombre de sujets ne réagissent pas. Tout se passe comme si le virus était atténué

ou que le nombre de germes virulents soit juste suffisant pour donner l'infection.

Une légère modification des facteurs qui agissent sur la vitalité du virus suffit à en modifier l'activité. Voici une expérience qui met bien en lumière ces faits : le 10 mars 1929, nous faisons agir, sur un virus composé de sérum de deux malades, de la bile à des taux variés ou suivant un temps de contact légèrement différent et nous inoculons les différents mélanges à des volontaires d'après le protocole suivant :

1° Trois sujets sont inoculés, sous la peau, avec 2 cent. cubes du virus bilié au $1/5$; temps de contact : cinq minutes. Aucun des trois sujets ne réagit.

2° Deux sujets sont inoculés sous la peau avec 2 cent. cubes du même virus bilié au $1/20$, avec quinze minutes de contact. Aucun ne réagit.

3° Quatre sujets sont inoculés, sous la peau, avec 2 cent. cubes de ce même virus bilié au $1/20$, avec dix minutes de contact. Aucun ne réagit.

4° Trois sujets sont inoculés, dans la veine, avec 2 cent. cubes de ce même virus bilié au $1/20$, avec dix minutes de contact. *Tous trois réagissent.*

Ainsi un virus tué par la bile à la concentration de $1/15$ pendant cinq minutes, tué par la bile au $1/20$ après un temps de contact de quinze minutes, n'est plus qu'affaibli par de la bile au $1/20$ après un contact de dix minutes, puisque, incapable de transmettre la dengue par voie sous-cutanée, il peut encore la transmettre par voie intraveineuse.

C'est sur ces données que nous avons essayé de réaliser la vaccination en recherchant si le virus bilié pouvait donner l'immunité contre un virus non bilié.

II. — Action préventive du vaccin bilié et tué.

Le virus bilié au $1/15$ est tué, ou tout au moins extrêmement affaibli, puisque les sujets inoculés avec un tel virus non seulement ne réagissent pas, mais ne font pas d'infection inapparente. Nous avons pu établir ce fait en inoculant du sang prélevé à des intervalles de temps variant de quatre à dix jours

après l'inoculation à des sujets réceptifs qui ne furent pas infectés. De plus, ces sujets ne sont pas immunisés. Nous avons réinoculé dix d'entre eux, inoculés une première fois, sans résultat, avec du virus bilié au 1/15. Les 10 sujets, après avoir reçu sous la peau 2 cent. cubes de sérum virulent, ont réagi et fait la dengue.

Pour renforcer l'action du virus, nous avons essayé d'abord de vacciner des sujets réceptifs par plusieurs injections faites à intervalles de quelques jours.

III. — Action préventive des inoculations répétées de virus bilié tué.

L'expérience a porté sur 9 volontaires. Ils ont été inoculés, une première fois, avec du virus bilié au 1/5, au 1/10 et au 1/12. Le contact du sérum infectieux avec la bile variant de quatre à cinq minutes. Aucun des vaccinés n'a réagi.

Trois semaines à un mois plus tard, suivant les individus, nous avons fait une seconde inoculation avec du virus bilié au 1/10, après un contact de dix minutes entre la bile et le sérum virulent. Cette fois encore aucune réaction n'a suivi. Cinq de ces vaccinés ont été éprouvés, trois semaines après la seconde vaccination, par injection sous la peau de 2 cent. cubes de sérum virulent. Deux ont réagi, trois ont résisté.

IV. — Pouvoir préventif du virus bilié au 1/12 et au 1/15 contre le virus bilié au 1/20.

Nous avons vu que le virus bilié au 1/20 n'est pas tué, puisqu'il est capable de donner la dengue, mais qu'il est à la limite de sa virulence puisqu'il ne donne pas constamment l'infection. Il était naturel de rechercher si un virus bilié tué, ou tout au moins non infectant, n'aurait pas, vis-à-vis de lui, une action préventive supérieure à celle qu'il a vis-à-vis du virus non traité. Nous avons vacciné un premier lot de 8 sujets avec du virus bilié au 1/12; quinze jours plus tard, nous avons réinoculé ces sujets avec du virus bilié au 1/20, le contact

entre la bile et le sérum virulent ayant été de cinq minutes. Sept des vaccinés ont résisté, un seul s'est infecté.

Un deuxième lot de 4 volontaires a été inoculé, une première fois, avec du virus bilié au 1/15; il n'y a pas eu de réaction.

Vingt jours plus tard, les 4 sujets ont reçu, par inoculation sous-cutanée, du virus bilié au 1/20, après cinq minutes de contact. Aucun d'eux n'a réagi. Nous avons répété l'expérience avec un nouveau lot de six personnes. Cette fois encore l'injection du virus bilié au 1/15 a préservé de l'infection avec du virus bilié au 1/20. Enfin, un quatrième lot de trois sujets a fourni les mêmes résultats.

Il apparaît donc que le virus bilié au 1/12 et surtout bilié au 1/15 immunise contre le virus encore actif bilié au 1/20.

Nous avons encore obtenu les mêmes résultats, non plus en faisant varier le taux de la bile, mais en modifiant la durée du temps de contact. Nous avons constaté en effet que du virus bilié au 1/20, au 1/25 et même au 1/30 perd son activité lorsque le contact entre la bile et le sérum virulent est maintenu une demi-heure ou une heure. Ce virus bilié non pathogène protège aussi l'homme contre le virus bilié au 1/20, encore virulent.

V. — Action préventive de la double vaccination contre le virus frais non modifié.

Ayant obtenu par injection de virus inactif une protection efficace contre un virus encore actif, il était naturel de rechercher si cette seconde vaccination n'entraînait pas, elle aussi, une résistance contre un virus plus actif, le virus non modifié. Nous avons donc éprouvé tous les sujets ayant reçu deux vaccinations, dont l'une, la dernière, avec du virus bilié au 1/20 et encore actif. Vingt-deux vaccinés ont été éprouvés, par inoculation sous-cutanée de 2 cent. cubes de sérum virulent. Vingt ont résisté, deux ont réagi. Ceci s'explique par le fait que la résistance du virus à la bile est soumise à de multiples facteurs. Telle dose de bile qui ne détruit pas un virus très actif et très frais pourra neutraliser un virus plus ancien mais encore actif.

Il semble bien ressortir de nos expériences qu'un virus de dengue convenablement atténué mais encore vivant protège contre un virus très actif.

Résumé et conclusions.

Des faits exposés dans ce dernier chapitre, nous pouvons conclure que :

1° Le virus de la dengue est tué après un contact de cinq minutes par de la bile ajoutée aux taux de 1/5, 1/10, 1/12 et 1/15. Il est tué également par la bile au taux de 1/20 après un quart d'heure de contact, par la bile au 1/25 et 1/30 après une demi-heure et une heure de contact.

2° Le virus bilié au 1/20 n'est pas tué après un contact de cinq minutes mais il est à la limite de sa virulence. Il ne donne pas constamment l'infection.

3° Le virus bilié et inactif ne confère aucune immunité contre le virus pur.

4° Les inoculations répétées de virus bilié, inactif, à court intervalle, peuvent, mais rarement, vacciner contre le virus frais actif.

5° L'inoculation du virus inactif bilié au 1/12 et surtout au 1/15 vaccine contre le virus encore actif bilié au 1/20.

6° La double vaccination : 1° avec du virus inactif bilié au 1/15; 2° avec du virus bilié au 1/20 immunise de façon presque absolue contre une inoculation sévère de virus très actif de dengue.

BIBLIOGRAPHIE

- ACRAMONTE (A.), Some clinical notes upon a recent epidemic of Dengue fever. *N. Y. Med. Journ.*, 84, 1906, 231, 233.
- ASHBURN (P. M.) et CRAIG (C. F.), Experimental investigations regarding the etiology of Dengue fever with a general consideration of the disease. *Journ. of Infect. diseases*, Chicago, 4, 1907, 440-475-Map., et *Phil. Journ. Sci.*, B2, 1907, 93-152, et *Journ. Am. med. Assoc.*, Chicago, 48, 1907, 692.
- BANCROFT (Th.), On the etiology of dengue fever. *Austr. Med. Gaz.*, Sydney, 25 1906, 17.
- BLAIZOT (L. et P.), Préparation économique du sérum contre la peste porcine. *C. R. Soc. Biol.*, 99, 1928, 1490-1491.

- BLANC (Georges), PIGNOT (J.) et POMARET (M.), Maladie expérimentale du cobaye par virus typhique d'origine murine. *C. R. Soc. Biol.*, **81**, 1918, 1264-1266.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS, Enquête sur le Bouton d'Orient en Crète. Ces *Annales*, **35**, 1921, 151-156.
- BLANC (Georges), Liste des insectes piqueurs, etc., observés en Crète pendant le mois d'août 1922. *Arch. Institut Pasteur hellénique*, **1**, 1922, 239-247.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), Quelques recherches expérimentales sur la dengue. *Bull. Soc. pathol. exotique*, **21**, 1928, 525-537.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), Quelques observations épidémiologiques faites aux environs d'Athènes pendant l'épidémie de dengue. L'enseignement qu'on peut en tirer. *Revue d'Hygiène*, **51**, 1929, 161-171.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS-DUMAS (J.) et SAENS (A.), Recherches expérimentales sur la sensibilité des singes inférieurs au virus de la dengue. *C. R. Acad. Sc.*, **188**, 1929, 468-470.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), Expériences faites en Grèce sur le mode de transmission de la dengue. *C. R. Acad. Sc.*, **187**, 1928, 1081-1083.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), Quelques données expérimentales sur le virus de la dengue. *C. R. Acad. Sc.*, **189**, 1929, 594-596.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), Action du sérum et du sang total des convalescents et guéris de dengue sur le virus. *C. R. Soc. Biol.*, **100**, 1929, 393-395.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), La dengue donne-t-elle l'immunité? *C. R. Soc. Biol.*, **100**, 1929, 31-32.
- BLANC (Georges), CAMINOPETROS (J.) et GIROUD (P.), Action du sérum anti-amyrique et du sérum contre la peste porcine sur le virus de la dengue. *Bull. Acad. Médecine*, **101**, 1929, n° 12, 1-3.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), Quelques mots sur le mode de conservation des *Stegomyia* en cage. *Bull. Soc. path. exotique*, **22**, 1929, 440-444.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), Πειραματικὴ ἐρευνα ἐπὶ τοῦ Δευγγείου. Κλινική. (τευχος), **25**, 1929, 1-12.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), Durée de conservation du virus de la dengue chez les *Stegomyia*. L'influence de la saison froide sur le pouvoir infectant. *C. R. Acad. des Sciences*, **188**, 1929, 1273-1275.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), Contribution à l'étude de la vaccination contre la dengue. *Bull. Acad. de Médecine*, **102**, 1929, n° 26, 1-4.
- BLANC (Georges) et CAMINOPETROS (J.), Recherches expérimentales et épidémiologiques sur le mode de transmission de la dengue en Grèce. *Bulletin Médical*, **43**, 1929, 978-981.
- BORY DE SAINT-VINCENT, Relation du voyage de la Commission scientifique de Morée. 2 volumes. Paris-Strasbourg, 1836.
- BRULLÉ, Expédition scientifique de Morée. Zoologie III, 1836, p. 289.
- CARBO-NOBOA (J.-M.), Etiologia del dengue. *Ann. Soc. Med. Quir. del Guayas, Guayaquil*, **4**, 1914, 326-329.
- CARPENTER (D. F.) et SUTTON (R. L.), Dengue in the Asthmian Canal zone including a report on the laboratory findings. *Journ. Am. Med. Assoc. Chicago*, **44**, 1905, 214-216.
- CHANDLER (A. C.) et RICE (L.), Observations on the etiology of Dengue fever. *Am. Journ. of Tropical Med. Baltimore*, **3**, 1923, 233-262.
- CLELAND (J. B.), BRADLEY (B.) et Mc DONALD (W.), On the transmission of Australian Dengue by the mosquito *Stegomyia fasciata*. *Med. Journ. Australia*, Sydney, **2**, 1916, 179, 200, pl. 1.

- CLELAND (J. B.), BRADLEY (B.) et Mc DONALD (W.), Dengue fever in Australia; its history and clinical course, its experimental transmission by *Stegomyia fasciata* and the results of inoculation and other experiments. *Rep. Direct. Gener. Publ. Health N. S. Wales*, Sydney, 1916, 185-233, et *Journ. Hygien.*, 16, 1917, 317-420.
- CLELAND (J. B.), BRADLEY (B.) et Mc. DONALD (W.), Further experiments in etiology of Dengue fever. *Journ. of Hygiene*, Cambridge, 18, 1919, 217-254.
- COPANARIS (P.), L'épidémie de dengue en Grèce au cours de l'été 1928. *Bull. et Office internat. d'Hygiène publique*, 20, 1928, 1590-1601.
- COUVY (L.), Dengue, constatations de spirochètes dans le sang. *Bull. Soc. path. exotique*, 14, 1914, 198.
- COUVY (L.), Notes sur deux épidémies de dengue à Beyrouth. *Ces Annales*, 36, 1922, 851-858.
- DOPTER (Ch.) et DE LAVERGNE (V.), Epidémiologie. Dengue, 3, 1927, 945-972, Paris.
- GAUDUCHEAU (A.), Inoculation de la dengue au singe. *Bull. Soc. médico-chirurgicale de l'Indochine*, 1915, p. 146.
- GRAHAM (H.), The dengue. A study of its pathology and mode of propagation. *Med. Rec.*, New York, 61, 1902, 204-207.
- GRAHAM (H.), The dengue. A study of its pathology and mode of propagation. *Journal of Tropical Med.*, London, 6, 1903, 209, 214.
- GUITERAS (J.) et CARTAYA (J. T.), El dengue en Cuba. Su importancia y su diagnóstico con la fiebre amarilla. *Rev. de Med. trop.*, Habana, 7, 1906, 39-54.
- HARRIS (W. H.) et DUVAL (Ch. W.), Studies upon the etiology of dengue fever I. Experimental transmission to the lower animal. *Journ. Exp. Med.*, 40, 1924, 817-833.
- HUDSON (N. P.), BAUER (J. H.) et PHILIP (C. B.), Protection test with serum of persons recovered from yellow fever in the western Hemisphere and west Africa. *Am. Journ. of Trop. med.*, 9, 1929, 1-16.
- JOYEUX (Ch.), Culicidés récoltés par la mission antipaludique de l'armée d'Orient en 1918. *Bull. Soc. Path. exotique*, 13, 1920, 117-126.
- KOIZUMI (T. K.), YAMAGUCHI et TONOMURA (K.), A study of dengue fever. *Taiwan Igukukai Zasshi*, 1917, nos 176, 369, 392; nos 177, 432, 463.
- KOIZUMI (T. K.), YAMAGUCHI et TONOMURA (K.), A study of dengue fever. *China med. Journ.*, 33, 1918, 355-357.
- KRAUS (R.), Ueber die Feststellung der dengue in Argentinien. *Deutsche Med. Wochens.*, Leipzig et Berlin, 42, 1916, 1314.
- LANGERON (M.), Moustiques capturés en Crète. *Annales de Parasitologie*, 1, 1923, 108-109.
- LAVINDER (C. H.) et FRANCIS (E.), The etiology of dengue. An attempt to produce the disease in the rhesus nonkey by the inoculation of defibrinated blood. *Journ. Inf. disease*, Chicago, 15, 1914, 341-346.
- LEGENDRE (J.), La dengue ouest-africaine. *Presse Médicale*, 34, 1926, 1012-1014.
- LEGENDRE (J.), Dengue et Stegomyia. *Bull. Soc. path. exotique*, 4, 1911, 26-30.
- LEGENDRE (J.), La dengue, ses variétés et la conservation de son virus en Indochine. *Bull. Soc. médico-chirurgicale de l'Indochine*. Hanoi et Haiphong, 3, 1912, 456-462.
- MACRIDIS (N. G.), L'épidémie de dengue à Athènes. *Revue d'Hygiène*, 51, 241-267.
- MANOUSSAKIS (E.), Recherches étiologiques sur la dengue. *Bull. Soc. path. exotique*, 21, 1928, 200-209.
- MARCHOUX (E.), SALIMBENI et SIMOND (P.), La fièvre jaune. *Ces Annales*, 17, 1903, 665-731.

- NICLOT (A.), L'anophélisme macédonien dans ses rapports avec le paludisme au cours de 1916. *Bull. Soc. path. exotique*, **10**, 1917, 323-328.
- NICOLLE (Charles) et LEBAILLY (Ch.), Les infections inapparentes. Exemple tiré de l'étude du typhus exanthématique. *C. R. Acad. Sciences*, **168**, 1919, 800-801.
- NICOLLE (Charles), Contribution à l'étude des affections inapparentes. Le typhus exanthématique inapparent. *Archiv. Institut Pasteur de Tunis*, **14**, 1925, 149-212.
- O'BRIEN (R. A.), In Queensland, observed cases of dengue in persons who had suffered three years before. *Australian Med. Gaz. Sydney*, **27**, 1908, 421.
- PERVES, Epidémie de dengue au centre de la marine à Dakar. *Archiv. med. navales*, **48**, 1928, 173.
- PETIT (A.), STEPHANOPOULOS (G.), Le virus de la fièvre jaune. *Bull. de l'Acad. de Méd.*, **100**, 1928, 3-11.
- PETIT (A.), STEPHANOPOULOS (G.) et FRASEY (V.), Sérum anti-amaryllique. *C. R. Soc. Biologie*, **99**, 1928, 541-542.
- REMLINGER (P.) et BAILLY (J.), La rage du pigeon. *Ces Annales*, **43**, 1929, 1543-1559.
- RUSH (Benjamin), An account of the bilious remitting fever, as it appeared in Philadelphia in the summer and autumn of the year 1780. Medical inquiries and observations. Philadelphia, 1789, 104.
- SCHULE (P. H.), Dengue fever. Transmission by *Aedes ægypti*. *Amer. Journ. Trop. Med.*, **8**, 1928, 203-213.
- SEGUY (E.), Les moustiques de l'Afrique mineure, de l'Égypte et de la Syrie. Paris, 1924.
- SELLARDS (A. W.) et SILER (J. F.), The occurrence of *Rickettsia* in mosquitoes (*Aedes ægypti*) infected with the virus of the dengue. *Amer. Journ. of Trop. Med.*, **8**, 1928, 299-304.
- SILER (J. F.), HALL (M. W.) et HITSCHENS (A. P.), Results obtained in the transmission of dengue fever. *Journ. Amer. med. assoc.*, **84**, 1924, 1163-1172.
- SILER (J. F.), HALL (M. W.) et HITSCHENS (A. P.), Dengue. Manila Bureau of Printing, 1926.
- STOKES (B.), BAUER (J. H.) et HUDSON (N. P.), Experimental transmission of Yellow fever to laboratory animals. *Amer. Journ. of Trop. Med.*, **6**, 1928, 103-164.
- VASSAL (J.) et BROCHET, La dengue en Indochine, épidémie à bord de *La Manche* en 1907. *Ann. d'Hygiène et de Médecine colon.*, **41**, 1908, 547-572.

SUR LA PERMÉABILITÉ DE LA MUQUEUSE DIGESTIVE DU COBAYE AUX BACILLES TUBERCULEUX VIRULENTS ET AUX BACILLES-VACCINS BCG

par A. SAENZ.

I. — INFECTION TUBERCULEUSE DU COBAYE PAR INGESTION DE BACILLES VIRULENTS.

Dans la polémique qu'ils ont engagée contre la vaccination antituberculeuse par la méthode de Calmette et Guérin, Chiari, Nobel et Solé [1] se sont efforcés de démontrer que la muqueuse digestive du cobaye adulte est non seulement imperméable aux bacilles-vaccins, mais encore qu'elle oppose un obstacle presque infranchissable à la pénétration des bacilles virulents administrés *per os*, même à la dose massive de 10 milligrammes. Les expériences dont le détail suit prouvent que cette opinion n'est pas fondée.

EXPÉRIENCE I. — Le 4 septembre 1928, 3 cobayes reçoivent par injection intrastomacale, au moyen d'une sonde, 1 milligramme de bacilles bovins (souche Vallée âgée de quatre semaines), en suspension dans 1 cent. cube d'eau physiologique (voir tableau I).

EXPÉRIENCE II. — Le 4 septembre 1928, 3 cobayes reçoivent par injection intrastomacale, au moyen d'une sonde, 5 milligrammes de bacilles bovins (même souche que précédemment) en émulsion dans 1 cent. cube d'eau physiologique (voir tableau II).

EXPÉRIENCE III. — Le 4 septembre 1928, 3 cobayes, à jeun depuis la veille, ingèrent avec de la mie de pain 5 milligrammes de bacilles bovins (même souche que précédemment) [voir tableau III].

EXPÉRIENCE IV. — Le 4 septembre 1928, 3 cobayes, à jeun depuis la veille, ingèrent avec de la mie de pain 10 milligrammes de bacilles bovins (même souche que précédemment) [voir tableau IV].

TABLEAU I. — Ingestion de 1 milligr. de bacilles virulents à la sonde, le 4 septembre 1928.

NUMÉRO des cobayes	POIDS initial en grammes	POIDS final en grammes	RÉSULTATS des intradermo-tuberculinations (1/10 de tuberculine brute au 1/10)	DATE DE LA MORT	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
B 83 . . .	320	355	<i>Négative</i> le 5 octobre. <i>Douteuse</i> le 12 décembre. <i>Positive</i> le 22 novembre.	42 décembre 1928.	Quelques bacilles de Koch dans les ganglions mésentériques et cæcal. Absence de lésions tuberculeuses viscérales. Les ensemençements de la rate et des ganglions mésentériques donnent une culture pure de <i>cocco</i> -bacilles de Malassez.
B 91 . . .	250	286	<i>Négative</i> le 5 octobre. <i>Positive</i> le 25 octobre. <i>Hémorragique</i> le 25 novembre et le 22 décembre. <i>Nécrotique</i> les 6 février, 15 avril, 14 mai, 13 juin et 10 juillet 1929.	21 juillet 1929.	Ganglions mésentériques et trachéo-bronchiques hypertrophiés. Granulations nombreuses sur la rate et sur le foie avec bacilles de Koch. Adénopathies cervicales et maxillaires avec bacilles de Koch.
B 98 . . .	250	675	<i>Positive</i> le 5 octobre. <i>Douteuse</i> le 25 octobre. <i>Nécrotique</i> les 22 novembre, 22 décembre 1928, 6 février, 15 avril, 13 juin, 10 juillet et 2 décembre 1929.	Sacrifié le 12 décembre 1929.	Très bon état. Graisse abdominale abondante. Ganglions mésentériques caséux; trachéo-bronchiques énormes. Lésions tuberculeuses massives de la rate, du foie et des poumons.

TABLEAU II. — Ingestion de 5 milligr. de bacilles virulents à la sonde, le 4 septembre 1928.

NUMÉRO des cobayes	POIDS initial en grammes	POIDS final en grammes	RÉSULTATS des intradermo-tuberculinations	DATE DE LA MORT	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
B 85 . . .	320	240	»	3 octobre 1928.	Ganglions cœcal et rétro-hépatique hypertrophiés (pois). Présence de bacilles de Koch. Les ensemençements de ces ganglions donnent une culture pure de coco-bacilles de Malassez.
B 86 . . .	400	350	»	20 septembre 1928.	Viscères sains. Adénopathie mésentérique et rétro-hépatique avec rares bacilles de Koch. Culture pure de coco-bacilles de Malassez (ganglions mésentériques).
B 87 . . .	350		<i>Positives</i> <i>faibles</i> les 5 octobre, 21 octobre 1928. <i>Forte</i> le 22 novembre 1928. <i>Nécrotiques</i> les 22 décembre 1928 et 26 février 1929.	3 mars 1929.	L'autopsie n'a pu être effectuée.

TABLEAU III. — Ingestion de 5 milligr. de bacilles virulents avec de la mie de pain le 4 septembre 1928.

NUMÉRO des cobayes	POIDS initial en grammes	POIDS final en grammes	RÉSULTATS des intradermo-tuberculinations	DATE DE LA MORT	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
B88 . . .	190	260	<i>Négative</i> le 5 octobre 1928. <i>Positives</i> les 25 octobre, 22 novembre et 22 décembre 1928.	30 janvier 1929.	Ganglions inguinaux, axillaires et mésentériques caséifiés. Granulations nombreuses sur les poumons et sur la rate. Présence de bacilles de Koch dans toutes les lésions.
B90 . . .	170	680	<i>Négative</i> le 3 octobre 1928. <i>Douteuse</i> le 25 octobre 1928. <i>Positives</i> les 22 novembre et 22 décembre 1928. <i>Hémorragiques</i> les 26 février et 14 avril 1929. <i>Nécrotiques</i> les 14 mai, 13 juin, 10 juillet, 10 septembre et 2 décembre 1929.	Sacrifié le 12 décembre 1929.	Très bon état général. Ganglions mésentériques et iléo-cæcal hypertrophiés et caséux avec bacilles de Koch. Rate hypertrophiée. Une seule granulation tuberculeuse sur un des poumons.
B92 . . .	175	110	<i>Positive</i> le 5 octobre 1928. <i>Négative</i> le 25 octobre 1928 (l'animal est cachectique).	3 novembre 1928.	Ganglions iléo-cæcal, mésentériques et rétro-hépatique hypertrophiés, contenant des cocco-bacilles de Malassez. Présence de bacilles de Koch dans le ganglion rétro-hépatique. Absence de lésions tuberculeuses viscérales.

TABLEAU IV. — Ingestion de 10 milligr. de bacilles virulents avec de la mie de pain le 4 septembre 1928.

NUMÉRO des cobayes	POIDS initial en grammes	POIDS final en grammes	RÉSULTATS des intradermo-tuberculinations	DATE DE LA MORT	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
B 80 . . .	240	340	<i>Négatives</i> les 5 octobre et 25 octobre 1928. <i>Positives</i> les 22 novembre et 22 décembre 1928.	29 janvier 1929.	Mort d'infection pneumococcique. Adénopathies mésentériques et inguinales. Rate hypertrophiée, présentant quelques granulations. Présence de bacilles de Koch dans les ganglions et dans la rate.
B 94 . . .	190	720	<i>Négative</i> le 5 octobre 1928. <i>Positive faible</i> le 25 octobre 1928. <i>Positives</i> les 22 novembre et 22 décembre 1928. <i>Nécrotiques</i> les 26 février, 15 avril, 14 mai, 13 juin, 10 juillet et 2 décembre 1929.	Sacrifié le 12 décembre 1929.	Très bon état général. Ganglions mésentériques, iléo-cæcal et trachéo-bronchiques hypertrophiés et caséux contenant des bacilles de Koch. 2 granulations tuberculeuses sur la rate hypertrophiée.
B 95 . . .	250		<i>Négative</i> le 5 octobre. <i>Positives</i> les 25 octobre et 22 novembre 1928. <i>Nécrotique</i> le 22 décembre.	3 janvier 1929.	Ganglions mésentériques et iléo-cæcal hypertrophiés, contenant des bacilles de Koch. Rate hypertrophiée. Pleuro-pneumonie à pneumocoques (hémoculture).

Il ressort de ces expériences que *les bacilles de Koch virulents, qu'ils soient introduits directement dans l'estomac au moyen d'une sonde ou qu'ils soient ingérés avec de la mie de pain, provoquent constamment, chez le cobaye adulte, même à la dose relativement faible de 1 milligramme, une infection tuberculeuse typique.*

Du seizième au trentième jour après le repas virulent, c'est-à-dire plusieurs semaines avant l'apparition de la sensibilité du derme à la tuberculine, les bacilles, ingérés à la dose de 5 milligrammes, peuvent être décelés dans les ganglions annexes de l'intestin. Cette infection précoce des ganglions lymphatiques, depuis le ganglion rétro-hépatique, qui draine la lymphe du foie, de la tête du pancréas, de la portion pylorique de l'estomac et du duodénum, jusqu'au ganglion iléo-cæcal, indique que l'absorption des bacilles ingérés débute dans les premières portions de l'intestin grêle (comme l'ont démontré Schlossmann et Engel [2], puis Sataké [3] par l'inoculation directe dans cet organe ou dans l'estomac), et qu'elle s'effectue jusque dans le cæcum. Au cours des semaines qui suivent, ces ganglions s'hypertrophient et subissent la dégénérescence caséuse; les ganglions trachéo-bronchiques se tuméfient et des lésions tuberculeuses nodulaires apparaissent sur la rate, sur le foie, puis sur les poumons. On observe même, dans quelques cas, des adénopathies sous-maxillaires et cervicales, qui témoignent de la perméabilité de la muqueuse pharyngée et des amygdales au bacille de Koch, déjà mise en évidence chez le cobaye par J. Koch et W. Baumgarten [4]. Dans les stades avancés de la maladie, on constate, en outre, parfois, une hypertrophie de tout le système ganglionnaire périphérique.

Bien qu'il existe des différences assez considérables dans la rapidité de sa progression, *la tuberculose d'origine digestive évolue toujours, chez le cobaye, sous une forme chronique, et elle reste compatible pendant plus d'une année avec un excellent état général.* Dans certains cas (cobayes B 90 et B 94), les lésions trouvées à l'autopsie, à la fin du quatorzième mois, sont limitées aux ganglions abdominaux et à quelques rares granulations sur la rate et sur les poumons. Il n'est donc pas surprenant que Chiari, Nobel et Solé n'aient constaté aucune alté-

ration macroscopique, au cent neuvième jour de l'infection, dans l'unique expérience sur laquelle ils ont fondé leurs conclusions négatives.

Même lorsqu'elles se généralisent à tous les viscères, les lésions tuberculeuses consécutives à l'infection *per os* se présentent toujours sous l'aspect de nodules plus ou moins volumineux et confluent identiques, sauf en ce qui concerne la vitesse de leur développement, aux nodules produits par tous les autres modes de l'inoculation expérimentale.

Les cobayes infectés par ingestion de 1 à 5 milligrammes de bacilles virulents deviennent sensibles à la tuberculine entre le trentième jour et le cinquantième jour après le repas virulent. D'abord faibles et œdémateuses, les réactions observées lors des intradermo-tuberculations successives deviennent hémorragiques à partir du troisième mois, puis nécrotiques, et elles conservent la même intensité jusque dans les derniers stades de la maladie.

II. — PERMÉABILITÉ DE LA MUQUEUSE DIGESTIVE DU COBAYE AU BCG.

Chiari, Nobel et Solé [1] ont affirmé, d'après les résultats d'une seule expérience portant sur 5 cobayes, que les bacilles-vaccins BCG, même quand ils sont ingérés à la dose de 10 milligrammes, « n'apportent aucune modification » à l'organisme du cobaye, pour cette raison qu'ils sont éliminés rapidement et en totalité avec les selles. Ces conclusions s'opposent à celles de la plupart des auteurs, en particulier de Calmette, C. Guérin, A. Boquet et L. Nègre [5], K. Sataké [3], Tzekhnovitzer [6], Nélis [7], Nélis et van Boeckel [8], Elbert et Zoukerman [9], J. Valtis et A. Saenz [10] qui, sans contester que la muqueuse digestive du cobaye adulte soit relativement peu perméable au BCG, aux bacilles tuberculeux virulents et aux bacilles paratuberculeux saprophytes, ont donné maintes preuves qu'elle est régulièrement franchie par ces germes, lorsqu'on les administre *per os* au moyen d'une sonde stomacale ou avec les aliments. C'est pourquoi nous avons repris les expériences de Chiari et de ses collaborateurs en suivant exactement leur protocole.

EXPÉRIENCE I. — Le 4 septembre 1928, 3 cobayes reçoivent par injection intrastomacale, au moyen d'une sonde, 10 milligrammes de BCG (souche n° 356 du 1^{er} août 1928) en suspension dans 1 cent. cube d'eau physiologique. Les intradermo-tuberculinations (injection intradermique de 0 c. c. 1 de tuberculine brute au 1/10), pratiquées sur ces animaux à partir du trente et unième jour après l'infection et les autopsies, ont donné les résultats suivants (voir tableau V).

EXPÉRIENCE II. — Le 4 septembre 1928, 3 cobayes reçoivent par injection intrastomacale, au moyen d'une sonde, 20 milligrammes de la même souche de BCG (voir tableau VI).

EXPÉRIENCE III. — Le 4 septembre 1928, 3 cobayes, à jeun depuis la veille, ingèrent avec de la mie de pain 20 milligrammes de BCG (même émulsion que dans les expériences précédentes) [voir tableau VII].

CONTRÔLE DE L'ATTÉNUATION DU BCG. — En vue de vérifier le degré d'atténuation du BCG employé dans les expériences précédentes, nous avons inoculé à 2 cobayes, le 3 août 1928, 10 milligrammes de ces bacilles-vaccins par la voie péritonéale (culture de quatre semaines du 353^e passage) [voir tableau VIII].

Le 4 février 1929, un cobaye A 19 pesant 490 grammes a reçu en inoculation intrapéritonéale 10 milligrammes de BCG (culture de quatre semaines du 360^e passage). Les intradermo-réactions tuberculiniques, positives les 26 février et 15 avril 1929, sont devenues nécrotiques à partir du 14 mai 1929. Cet animal fut sacrifié le 11 décembre 1929 (poids 640 grammes). La seule lésion trouvée à l'autopsie consistait en un nodule épiploïque du volume d'un pois, dont le pus contenait un assez grand nombre de bacilles acido-résistants.

Nous pouvons conclure de ces expériences que le BCG, administré *per os* à la dose de 10 à 20 milligrammes, est absorbé par la muqueuse digestive, et qu'il imprime à l'organisme du cobaye des modifications réactionnelles, décelables par les épreuves tuberculiniques. L'hypersensibilité spécifique, qui dénonce l'imprégnation bacillaire, débute entre le cinquantième et le quatre-vingtième jour, parfois plus tardivement, et elle augmente peu à peu dans la suite : d'abord œdémateuses et faibles, les réactions provoquées par l'injection intradermique de 0 c. c. 1 de tuberculine brute, diluée au 1/10, deviennent successivement hémorragiques et nécrotiques. La réactivité du derme persiste avec son intensité maximum pendant trois ou quatre mois, puis elle diminue progressivement et tend à disparaître vers le quinzième mois après l'ingestion de BCG. Cet état d'allergie peut être éclipsé ou aboli par certaines affections intercurrentes, notamment par la pseudo-tuberculose.

TABLEAU V. — Ingestion de 20 milligrammes de BCG à la sonde le 4 septembre 1928.

NUMÉRO des cobayes	POIDS initial en grammes	POIDS final en grammes	RÉACTIONS TUBERCULINIQUES	DATE DE LA MORT	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
B 71 . . .	205	280	Négative le 5 octobre 1928. Léger œdème le 25 octobre 1928. Œdème le 23 novembre 1928. Positive forte le 2 décembre 1928.	7 février 1929.	Aucune lésion tuberculeuse. Pleuro-pneumonie (pneumocoque à l'hémoculture).
B 77 . . .	205	290	Négative le 5 octobre 1928. Œdème le 25 octobre 1928. Négative le 21 novembre 1928.	4 décembre 1928.	Aucune lésion tuberculeuse. Hypertrophie des ganglions mésentériques et cæcaux dont l'ensemencement donne une culture pure de cocco-bacilles de Malassez-Vignal.
B 84 . . .	220	760	Négative le 5 octobre 1928. Positives faibles les 25 octobre et 21 novembre 1928. Positive nette le 21 décembre 1928. Hémorragiques les 26 février et 15 avril 1929. Nécrotique le 14 mai 1929. Positives les 13 juin et 40 juillet 1929. Douteuse le 2 décembre 1929.	Sacrifié le 2 décembre 1929.	Animal en excellent état. Aucune lésion tuberculeuse.

TABLEAU VI. — Ingestion de 20 milligrammes de BCG à la sonde le 4 septembre 1928.

NUMÉRO des cobayes	POIDS initial en grammes	POIDS final en grammes	RÉACTIONS TUBERCULINIQUES	DATE DE LA MORT	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
B 73 . . .	200	490		27 septembre 1928.	<i>Aucune lésion tuberculeuse.</i> Culture pure de coco-bacilles de Malassez-Vignal à l'ensemencement du ganglion cervical hypertrophié.
B 74 . . .	280	770	<i>Négatives</i> les 5 octobre et 25 octobre 1928. <i>Hémorragique</i> le 22 novembre 1928. <i>Faible</i> le 21 décembre 1928. <i>Nérotiques</i> les 26 février et 15 avril 1929. <i>OEdémateuses</i> les 13 mai, 10 juillet et 10 octobre 1929. <i>Douteuse</i> le 2 décembre 1929.	Sacrifié le 2 décembre 1929.	Animal en excellent état. <i>Aucune lésion tuberculeuse.</i>
B 79 . . .	320		<i>Négatives</i> les 5 octobre et 25 octobre 1928. <i>Positive</i> le 21 décembre 1928. <i>Négative</i> le 26 février 1929.	7 mars 1929.	<i>Aucune lésion tuberculeuse.</i> Congestion pulmonaire. L'hémoculture donne du pneumocoque.

TABLEAU VII. — Ingestion de 20 milligrammes de BCG avec de la mie de pain le 4 septembre 1928.

NUMÉRO des cobayes	POIDS initial en grammes	POIDS final en grammes	RÉACTIONS TUBERCULINIQUES	DATE DE LA MORT	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
B 78 . . .	275		<i>Négative</i> le 5 octobre 1928. <i>Léger œdème</i> le 25 octobre 1928. <i>Positives</i> les 22 novembre et 22 décembre 1928.	12 février 1929.	<i>Aucune lésion tuberculeuse.</i> Broncho-pneumonie à pneumocoques. (Hémoculture positive).
B 89 . . .	225		<i>Douteuse</i> le 5 octobre 1928. <i>Négatives</i> les 12 novembre et 22 décembre 1928. <i>Légèrement positive</i> le 26 février 1928.	3 mars 1929.	N'a pu être autopsié.
B 93 . . .	270	320	<i>Négatives</i> les 5 octobre et 25 octobre 1928. <i>Hémorragique</i> le 22 novembre 1928. <i>Nécrotique</i> le 22 décembre 1928.	11 février 1929.	<i>Aucune lésion tuberculeuse.</i> Un ganglion mésentérique hypertrophié. Broncho-pneumonie à pneumocoques.

TABLEAU VIII. — Inoculation intrapéritonale de BCG le 3 août 1928.

NUMÉRO des cobayes	POIDS initial en grammes	POIDS final en grammes	RÉACTIONS TUBERCULINIQUES	DATE DE LA MORT	RÉSULTATS DES AUTOPSIES
D16 . . .	480	980	Positives les 28 août, 22 décembre 1928, 26 février, 15 avril, 14 mai 1929. Nécrotiques les 13 juin, 10 juillet, 10 septembre et 2 décembre 1929.	Sacrifié le 11 décembre 1929.	Deux nodules épiplœiques, l'un du volume d'un pois, l'autre du volume d'une len- tille, contenant du pus épais, crémeux, dans lequel on trouve des bacilles acido- résistants assez peu nombreux, altérés et faiblement colorés par la méthode de Ziehl. <i>Aucune lésion tuberculeuse dans les organes et les ganglions lymphatiques.</i>
D14 . . .	460	1.100	Positives les 28 août, 22 décembre 1928, 26 février, 15 avril, 14 mai 1929. Nécrotiques les 13 juin, 10 juillet, 10 septembre et 2 décembre 1929.	Sacrifié le 11 décembre 1929.	Nodule épiplœique du volume d'une noi- sette, dont la paroi épaisse adhère à l'estomac et à l'intestin grêle. Présence de bacilles acido-résistants dans le pus épais de ce nodule. <i>Absence de lésions tuberculeuses dans les organes et les gan- glions lymphatiques.</i>

En dehors d'une légère tuméfaction transitoire du système ganglionnaire, signalée par A. Calmette, A. Boquet et L. Nègre [5], le passage du BCG à travers la muqueuse digestive s'effectue silencieusement et ne laisse aucune trace visible dans l'intestin et les autres organes. Quelle que soit l'intensité des réactions tuberculiniques constatées ultérieurement, *on n'observe jamais, à l'autopsie des animaux, la moindre lésion tuberculeuse macroscopique, ganglionnaire ou viscérale*. Par ailleurs, les résultats des inoculations intrapéritonéales, effectuées à titre de contrôle, à la dose de 10 milligrammes, témoignent que, depuis les expériences initiales de Calmette et de ses collaborateurs, les caractères du BCG ne se sont modifiés ni dans le sens d'une récupération partielle de la virulence, ni dans le sens d'un affaiblissement plus marqué. Malgré les nombreux passages sur les milieux artificiels qu'il a subis, le BCG exerce aux mêmes doses la même action allergisante chez le cobaye quand il est administré *per os*, et il produit les mêmes lésions transitoires strictement locales, sous la forme d'un abcès froid épiploïque, lorsqu'il est inoculé à la dose de 10 milligrammes par la voie péritonéale. On peut donc le considérer comme un véritable vaccin, au sens pastorien du mot, c'est-à-dire comme un germe inoffensif, dont l'atténuation et les propriétés immunisantes, attestées par une pratique déjà longue, sont héréditairement fixées.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] CHIARI, NOBEL et SOLÉ. *Zeits. f. Tuberkulose*, **51**, 1928, p. 354.
- [2] SCHLOSSMANN et ENGEL. *Deut. Med. Woch.*, **32**, 1903, p. 1070.
- [3] SATAKÉ (K.). *Ces Annales*, **41**, 1927, p. 1334.
- [4] KOCH (J.) et BAUMGARTEN (W.). *Deut. Med. Woch.*, **48**, 1922, p. 1096.
- [5] CALMETTE (A.), BOQUET (A.) et NÈGRE (L.). *Ces Annales*, **35**, 1921, p. 361;
CALMETTE (A.), NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). *Ces Annales*, **36**, 1922, p. 525;
CALMETTE (A.), GUÉRIN (C.), NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). *Ces Annales*,
40, 1926, p. 90.
BOQUET (A.). *C. R. Soc. de Biol.*, **96**, 1927, p. 176.
- [6] TZEKHOVITZER. *Ces Annales*, **41**, 1927, p. 322.
- [7] NÉLIS. *C. R. Soc. de Biol.*, **97**, 1927, p. 1453.
- [8] NÉLIS et VAN BOECKEL. *C. R. Soc. de Biol.*, **99**, 1928, p. 1248, 1251, 1883.
- [9] ELBERT, GELBERG et ZOUKERMAN. *Ces Annales*, **42**, 1928, p. 76 (supplément).
- [10] VALTIS (J.) et SAENZ (A.). *C. R. Soc. de Biol.*, **99**, 1928, p. 1841; **100**, 1929, p. 271.

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DE L'ALLERGIE A LA TUBERCULINE
SUR LES SUJETS VACCINÉS AU BCG
PAR VOIE SOUS-CUTANÉE

par ROLAND CHAUSSINAND.

(Clinique infantile du professeur Rohmer, Strasbourg.)

Jusqu'à présent, la *voie buccale* a surtout été employée pour la vaccination des nouveau-nés par le BCG. Or, cette façon de procéder n'est possible que si l'absorption des bacilles par l'intestin a réellement lieu dans les dix premiers jours de la vie, ce qui ne paraît pas absolument démontré, d'après l'école pédiatrique de Vienne. Il est cependant certain que le BCG peut se fixer dans l'organisme après avoir traversé la muqueuse intestinale. Les autopsies de nouveau-nés vaccinés *per os*, morts de maladies non tuberculeuses, citées par Calmette, par Girod et Debarge, par Iakhnis, par Zeyland et Piasecka-Zeyland, par Léon Bernard, etc... le démontrent irréfutablement. L'allergie à la tuberculine, que l'on constate chez des nouveau-nés, vaccinés au BCG par voie buccale, est également une preuve de l'absorption intestinale, lorsque ces enfants ont été complètement isolés de tout contact tuberculeux jusqu'à l'apparition de cette allergie (Robert Debré et Cofino). Herbert Buschmann, par la réaction de sédimentation des globules rouges du sang, Pittaluga et Garcia, par l'étude des variations leucocytaires, prouvent également que les bacilles BCG traversent la muqueuse intestinale du nouveau-né. Il ne peut donc y avoir de doute à ce sujet : *l'intestin du nouveau-né peut, dans les dix premiers jours, absorber le BCG.*

Toutefois la quantité de bacilles absorbés est variable chez chaque enfant et cette absorption peut même, dans certains cas, être, sinon nulle, du moins insuffisante. Il arrive que le nouveau-né rejette une partie de sa nourriture et il est possible

aussi que le péristaltisme intestinal puisse, dans certains cas, diminuer par sa violence la faculté d'absorption de la muqueuse intestinale. En examinant les selles de nouveau-nés ayant ingéré 30 milligrammes de BCG, on en retrouve une grande partie et dans certains cas même d'énormes quantités. La faculté d'absorption de l'intestin varie probablement avec chaque sujet et selon que le vaccin a été ingéré à une date plus ou moins rapprochée de la naissance.

L'allergie tuberculinique n'apparaît, au bout de cinq à huit semaines, que chez environ 30 p. 100 des vaccinés *per os* et *isolés*. Parmi nos enfants vaccinés par voie buccale à la clinique infantile et qui sont demeurés isolés dans des box, 26,8 p. 100 seulement réagissaient au bout de huit semaines. Certains d'entre eux n'ont jamais présenté d'allergie, même après six, huit et même dix mois d'observation, malgré des épreuves répétées par cuti et par intradermo-réactions, ces dernières avec 1/10 de milligramme de tuberculine purifiée. Certains auteurs ont obtenu des chiffres plus élevés, mais il s'agissait alors le plus souvent de vaccinés *non isolés*. Debré et Cofino trouvent un pourcentage de 88,6 en employant pour l'intradermo-réaction des doses de tuberculine allant jusqu'à 1 milligramme, mais leurs recherches ont été faites sur des enfants vaccinés depuis un à quarante-huit mois et il est impossible d'en déduire la date d'apparition de l'allergie. Or, comme nous le verrons plus loin, l'allergie tuberculinique étant la seule donnée qui nous permette actuellement de fixer une limite précise à la durée de l'isolement, nous devons nous efforcer de l'obtenir régulièrement et le plus vite possible.

La réaction de sédimentation ne nous indique qu'irrégulièrement si nous pouvons considérer un nouveau-né ayant reçu du BCG *per os* comme vacciné. En effet, d'après les renseignements complémentaires que Buschmann a bien voulu nous donner, 10 sujets, devenus cependant allergiques après la vaccination, n'ont jamais présenté de sédimentation accélérée, et pour 26,9 p. 100 des vaccinés *per os* la réaction de sédimentation a toujours été normale. D'ailleurs, une infection banale suffit à provoquer chez un nouveau-né une sédimentation accélérée. En outre, cette réaction ne donne aucune indication pour la date à laquelle il convient de procéder à la revaccination.

La formule leucocytaire ne donne également que des indications imparfaites. Les tableaux publiés par Pittaluga et Garcia à ce sujet démontrent que l'image leucocytaire ne donne pas d'indication appréciable pour environ 20 p. 100 des vaccinés *per os*. Et, comme dans la réaction de sédimentation, on ne peut ni en déduire la durée de l'isolement, ni la date à laquelle il faut revacciner, et les infections intercurrentes, assez fréquentes chez le nourrisson, interviennent en changeant l'image leucocytaire.

Nous arrivons donc à cette conclusion qu'il n'y a actuellement que l'allergie tuberculinique qui donne la certitude que le sujet vacciné a retenu un nombre suffisant de bacilles et qui fixe une limite précise à la durée de l'isolement. Sa disparition est, d'autre part, une indication précieuse pour la date de revaccination, variable chez les différents vaccinés.

En recherchant ainsi méthodiquement ces réactions à la tuberculine, nous ne prétendons pas, comme Pirquet, Nobel, Chiari et Solé, que la prémunition contre la tuberculose ne peut pas exister sans allergie, mais nous croyons que, chez un enfant vacciné et isolé, elle prouve qu'il est réellement porteur des germes prémunisants. Dès lors, et à moins qu'on ne conteste l'efficacité du BCG, la réaction tuberculinique positive nous donne la certitude que le vacciné se trouve prémuni. Par contre, lorsque l'enfant reste insensible à la tuberculine, rien ne permet d'affirmer que les germes du vaccin ont été retenus ou qu'ils ont été détruits et éliminés par l'organisme. Cette incertitude devient angoissante quand il s'agit de mettre un nourrisson vacciné en contact avec des bacillaires. Et c'est pourquoi nous avons été amené à rechercher quel mode de vaccination et quelle dose de BCG sont susceptibles de provoquer aussi régulièrement et aussitôt que possible l'allergie et peuvent nous permettre de fixer une limite précise à la durée de l'isolement. Or l'isolement du vacciné provenant d'un milieu bacillaire ou simplement suspect est une mesure de toute première importance, qui doit être observée rigoureusement si l'on ne veut pas s'exposer à rendre la vaccination illusoire et par là même discréditer ce mode de prémunition. Rohmer et Chaussinand ont publié à ce sujet quatre observations cliniques démonstratives, et M. Calmette a bien voulu nous écrire qu'il partageait

entièrement notre opinion sur la nécessité d'un isolement d'un mois au moins après la vaccination, mais qu'« il ne croyait pas nécessaire d'attendre, pour faire cesser cet isolement, l'apparition de l'allergie, car l'état de résistance aux surinfections précède manifestement l'allergie. Seulement celle-ci est, en effet, le seul signe objectif qui s'offre à nous ». Nous croyons également que l'état de résistance aux surinfections précède l'allergie, mais nous ignorons *chez l'enfant* de combien de temps exactement il lui est antérieur. Certainement la date de l'apparition de l'immunité varie d'un enfant à l'autre et il est impossible de fixer pour chaque cas, en l'absence de test, une limite nette à l'isolement; et puisque l'apparition de l'allergie est le seul signe objectif qui s'offre à nous, c'est elle qui doit nous guider, surtout si l'on peut provoquer son apparition régulière et précoce.

Pour obtenir cette allergie régulièrement et dans le plus bref délai, nous nous sommes adressé à la *vaccination BCG par voie sous-cutanée*. Ce mode de vaccination n'a pas d'inconvénients immédiats. Nous n'avons, en effet, jamais observé ni hyperthermie, ni chute de poids, ni malaise quelconque. Les suites n'en semblent pas douloureuses. Nous avons injecté 2 cent. cubes de BCG-SC, c'est-à-dire 0 milligr. 05, à un athrétique. Non seulement l'enfant n'en a pas souffert, mais les jours suivants il commença à augmenter de poids. Un monstre hydrocéphale a reçu 80 cent. cubes par voie intrapéritonéale, c'est-à-dire 2 milligrammes, sans qu'il ait, dans la suite, accusé la moindre réaction générale.

Les seuls incidents inoffensifs, mais désagréables, surtout dans la pratique non hospitalière, qui puissent suivre la vaccination par la voie sous-cutanée, sont les *abcès froids* qui peuvent se former au voisinage immédiat du point d'inoculation. Ces abcès sont indolores et guérissent toujours, après qu'on les a ponctionnés, au bout d'un à deux mois. Leur seul inconvénient est d'inquiéter parfois les familles. Il est donc préférable de les éviter si on le peut. Ils représentent une complication, assurément très bénigne, et d'ailleurs beaucoup plus rare qu'on ne le craignait au début. Les doses alors employées étaient souvent très élevées (jusqu'à 2 milligrammes). D'autre part on vaccinait par cette voie surtout les enfants qui avaient déjà

vécu dans un milieu tuberculeux ou plus ou moins suspect. On faisait généralement au préalable une ou deux cuti-réactions et, si les enfants ne réagissaient pas, on les vaccinait. Or, il pouvait très bien arriver qu'un enfant ne réagissant pas lors de ces examens avait été infecté plus ou moins gravement peu de temps auparavant sans que l'infection pût être dénoncée par les réactions tuberculiniques avant plusieurs semaines; de sorte que, dans beaucoup de cas, les abcès étaient certainement dus au « phénomène de Koch ».

Nous estimons aussi qu'en général les infiltrations qui se forment au bout d'un à trois mois au lieu d'inoculation étaient, soit trop vite ponctionnées, soit traumatisées par des manipulations répétées. Nous avons, en effet, parmi nos 35 sujets, vu régresser spontanément plusieurs infiltrations de 2 à 5 centimètres de diamètre, alors que nous pensions qu'un abcès allait se former et, comme nous verrons plus loin, les deux seuls abcès froids que nous avons observés ne sont très probablement dus qu'au traumatisme de ces infiltrations sous-cutanées. En règle générale, l'infiltration, à la condition de n'y toucher que le moins possible, se résorbe spontanément et deux à trois mois après la vaccination il ne reste qu'un nodule dur et de dimensions variables. Si l'on emploie le vaccin BCG-SC (émulsion homogène de 0 milligr. 025 de BCG par centimètre cube) et si l'on observe les précautions indiquées par Calmette, ce n'est qu'exceptionnellement, et à moins d'injecter des doses très élevées, que se produira un abcès froid. Sur 35 enfants vaccinés au BCG par voie sous-cutanée avec des doses variant de 0 milligr. 025 à 0 milligr. 1 (concentration : 0 milligr. 025 par centimètre cube), deux seulement ont fait un abcès froid.

Il s'agissait, pour le premier, d'un hérédo-syphilitique (*Tableau IV*, n° 1) vacciné le jour de sa naissance par deux injections simultanées de 0 milligr. 0125 (0 c. c. 5) dans le tissu sous-cutané à la hauteur des deux omoplates (au total, 0 milligr. 025). Vers le deuxième mois, il se forma, comme chez les autres enfants vaccinés par deux injections simultanées, au niveau de l'un des points d'injection (à droite), une infiltration du tissu sous-cutané qui, dans la suite, augmenta progressivement de volume. La peau resta toujours normale. A l'autre point d'injection, on ne percevait à la palpation, dès le com-

mencement du deuxième mois, qu'un nodule ayant à peine la dimension d'un grain de millet et qui, dans la suite, resta stationnaire. A deux mois et demi fut commencée la première cure antisyphilitique et pendant sept semaines, outre qu'il fut fait 8 injections d'acétylarsan, l'enfant fut *frictionné* à l'onguent napolitain (chaque semaine pendant un jour) sur la zone infiltrée. Vers la fin de cette cure, l'enfant fit une broncho-pneumonie, qui dura treize jours, pendant lesquels on lui appliqua journellement *deux cataplasmes* sinapisés et des *frictions à l'huile chaude* sur le dos. L'infiltration, qui avait à ce moment 4 centimètres de diamètre, fut donc fortement traumatisée. Comme nous nous proposons, depuis longtemps, de faire des expériences dans le but d'exalter la virulence du BCG par passages successifs, nous décidâmes de ponctionner le centre de cette infiltration pour essayer d'en retirer du pus et d'en faire une culture. Nous n'en obtînmes que quelques gouttes, ce qui nous incite à croire que, malgré le fort traumatisme qu'elle a subi, cette infiltration aurait sans doute pu se résorber spontanément sans ponction, comme nous l'avions observé chez d'autres enfants qui présentaient des infiltrations de mêmes dimensions.

Le second abcès froid survint chez un nouveau-né (*Tableau IV*, n° 2), vacciné le septième jour de la même façon et à la même dose que le précédent. Il fut retiré du service deux jours après la vaccination malgré nos objections, la mère étant suspecte de tuberculose. Nous revîmes l'enfant à son domicile sept mois plus tard, et nous trouvâmes une petite cicatrice à l'un des points d'injection du vaccin (à droite). La mère nous déclara qu'elle avait laissé tomber l'enfant par terre vers le deuxième mois et qu'en le relevant elle avait constaté sous la peau, à la hauteur de l'omoplate droite, une nodosité d'environ 2 centimètres de diamètre. Prenant l'infiltration due au BCG, qui existait certainement déjà auparavant, pour une lésion provenant de la chute, elle y appliqua des *cataplasmes*, *frictionna* la peau avec une pommade quelconque et finalement chercha à *exprimer* cette petite tumeur « pour que le poison en sorte ». Au troisième mois, elle réussit à en faire sortir du pus. La cicatrisation et la régression de l'infiltration se firent en un mois et actuellement, après sept mois, il ne reste qu'une petite cicatrice cutanée lisse, d'à peine 0 cm. 5 de longueur, non

adhérente aux plans profonds. Donc, dans ce cas encore il s'agit d'un abcès froid, probablement dû aux traumatismes répétés.

Les 33 autres enfants vaccinés par voie sous-cutanée n'ont pas fait d'abcès froid. Donc, même en admettant que ces deux abcès froids ne fussent pas provoqués par des traumatismes répétés, ce qui est peu probable, il n'y aurait, sur 35 enfants vaccinés par voie sous-cutanée à des doses variant entre 0 milligr. 025 et 0 milligr. 1, que deux abcès froids, proportion tellement minime qu'elle ne peut pas être invoquée contre ce mode de vaccination. La voie sous-cutanée nous paraît, pour cette raison, préférable à la voie intradermique utilisée par Wallgren et qui est beaucoup plus favorable à la production de l'abcès froid.

Nous allons relater brièvement les essais que nous avons faits, du 28 février 1929 au 25 septembre de la même année, sur *37 enfants vaccinés par voie sous-cutanée*. Ce que nous recherchions dès le début de ces expériences c'était l'apparition de l'allergie aussi précoce que possible en tâchant d'éviter la formation d'un abcès froid. Les réactions à la tuberculine n'ayant pas été recherchées chez les différents enfants aux mêmes dates après la vaccination, nous indiquons dans nos tableaux toutes les réactions faites sur chaque sujet pendant la durée de son hospitalisation. Nous nous sommes servis pour ces examens de la cuti-réaction de Pirquet (tuberculine brute) et de l'intradermo-réaction de Mantoux au 1/10^e de milligramme (tuberculine purifiée). Il est évident qu'en employant pour l'intradermo-réaction des doses de tuberculine plus fortes, l'allergie pourra être constatée encore plus tôt.

GROUPE A (TABLEAU I).

Nous avons employé au début la dose alors recommandée par Calmette (*0 milligr. 025 de BCG dans 1 cent. cube de liquide*). *12 nourrissons* furent ainsi vaccinés par *une seule injection* faite dans le tissu sous-cutané à la hauteur de l'omoplate gauche. Comme on peut s'en rendre compte d'après le *tableau I*, 4 nouveau-nés nous furent retirés du service dès après quelques jours. L'un d'eux est mort un mois plus tard de broncho-pneumonie. A l'autopsie rien ne fut trouvé qui pût être invoqué contre le BCG. L'inoculation aux cobayes des gan-

TABLEAU I. — *Groupe A* : Douze nourrissons vaccinés au BCG-SC. Une injection de 0 milligr. 025.

NUMÉRO	ÂGE en jours	DURÉE DE LA PÉRIODE PRÉALLERGIQUE EN SEMAINES															RÉACTIONS locales		
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	20	22	37	
1	3	C —		C —		C —	C —	m —		m —	m —	C —	m —			C +	→	C +	
2	5	Repris du service trois jours après la vaccination.															Pas de réaction.		
3	5	Repris du service le jour de la vaccination. Décédé après un mois à la suite d'une broncho-pneumonie															Pas de réaction.		
4	6	Jumeaux repris du service trois jours après la vaccination.															Petit nodule.		
5	6																Petit nodule.		
6	9	C —	C —	C —	C —	C —	m —	m —	C —										
7	17	C —	C —	m —	m ?														
8	49	C —	C —	C —	C —	C —		C +											
9	60	C —	C —	C —	C —	C —	C —		C —	C —	m —								
10	60	C —	C —	C —	C —	C —	C —		C —	C —	m —						C ?		
11	84	C —	C —	C —	C —	C —	C —	C —		m —							→		
12	91	C —	C —	C —	C —	C —		M ?	C —					C +		→	C —		
												Pas de réaction.							

C, cuti-réaction de Pirquet; m, intradermo-réaction de Mantoux avec 0 milligr. 1 de tuberculine purifiée; +, positive; —, négative; ?, douteuse.

C, anti-réaction de Pirquet; m, intradermo-réaction de Mantoux avec 0 milligr. 1 de tuberculine purifiée; +, positive; —, négative; ?, douteuse.

glions satellites de la région d'injection fut négative. Il ne nous resta donc que 8 enfants en observation, dont 3 nouveau-nés et 5 nourrissons âgés de quarante-neuf à quatre-vingt-onze jours. Ces derniers, ainsi que les vaccinés plus âgés des groupes suivants, étaient hospitalisés au service soit depuis leur naissance, soit au moins depuis deux mois et n'avaient jamais réagi auparavant à la tuberculine. *Sur ces 8 enfants, 3 seulement devinrent nettement allergiques après environ huit, quatorze et vingt semaines.* Chez eux la réaction locale était, ou nulle, ou consistait le plus souvent en un petit nodule qui s'installait vers le deuxième ou troisième mois et qui ne dépassait guère le volume d'un grain de millet. Les 3 enfants ainsi devenus allergiques firent de légères infiltrations, de 0 cent. 5 à 1 centimètre de diamètre, qui évoluèrent en nodules de quelques millimètres de diamètre après deux à trois semaines. *Revus après six à huit mois, aucun n'avait fait d'abcès froid.*

GROUPE B (TABLEAU II).

Nous décidâmes alors d'augmenter la dose de BCG, mais par crainte de l'abcès froid nous fîmes 2 injections simultanées de 0 milligr. 025 (1 cent. cube) dans le tissu sous-cutané à la hauteur des deux omoplates, pensant que l'émulsion vaccinale serait ainsi plus facilement absorbée. 9 nourrissons reçurent donc un total de 0 milligr. 05 (2 cent. cubes) en deux injections. En étudiant les résultats des réactions à la tuberculine au tableau II, on voit que tous étaient allergiques entre la troisième et la huitième semaine. Le plus souvent, vers la fin de la sixième semaine, la cuti-réaction était déjà positive. Le résultat de ces réactions était toujours très net et plus fortement prononcé que dans le groupe précédent. A noter que les réactions tuberculiniques se montraient moins fortes chez les enfants vaccinés quelques jours après leur naissance que chez ceux qui avaient reçu le vaccin à un âge plus avancé. Les réactions locales étaient les suivantes : vers la quatrième semaine environ, un côté seulement, tantôt le gauche, tantôt le droit, commençait à s'infiltrer, tandis qu'à l'autre point d'injection on ne sentait à la palpation, et encore dans un certain nombre de cas seulement, qu'un minuscule nodule. Cette infiltration sous-cutanée,

TABLEAU II. — *Groupe B* : Neuf nourrissons vaccinés au BCG-SC.
Deux injections simultanées de 0 milligr. 025 (0 milligr. 05).

NUMÉRO	AGE	DURÉE DE LA PÉRIODE PRÉALLERGIQUE EN SEMAINES											RÉACTIONS LOCALES
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	16	
1	5 jours.			C —			C +				C + +		Nodule (diam. 0 cent. 3).
2	6 jours.			C —		C +	m + +	C +		C +			Infiltration (diam. 4 cm.), nodule (4 cm.).
3	12 semaines.	C —	C ?	m —				C + +					Infiltration (diam. 2 cm.), régresse en nodule (diam. 4 cm.).
4	14 semaines.	C —		C — m +	C +			C + +					Infiltration (diam. 4 cm.), nodule (diam. 0 cent. 5).
5	17 semaines.			C — m —		C +	C +		C + +				Infiltration (diam. 3 cm.), nodule (0 cent. 8).
6	18 semaines.	C ?	C ?	C ? m +	C +			C +		m + +	C + +		Infiltration (diam. 2 cm.), nodule (4 cm.).
7	20 semaines.		C —	C — m ?		C + +			C + +			C + +	Infiltration (diam. 2 cent. 5), régresse en nodule (diam. 4 cm.).
8	25 semaines.	C —	C —	C — m —	C —	C +		C + +					Infiltration (diam. 4 cent. 5), nodule (diam. 0 cent. 8).
9	39 semaines.	C —	m + C +	C +	C + +						C + +		Infiltration (diam. 3 cm.), régresse en nodule (diam. 0 cent. 5).

C, cuti-réaction; m, intradermo-réaction (0 milligr.-1 de tuberculine purifiée); +, +, fortement positive; +, positive; ?, douteuse; —, négative.

non adhérente à la peau, augmentait de volume pendant environ une à trois semaines pour arriver à un diamètre de 1 à 3 centimètres, puis régressait plus ou moins rapidement et ne formait vers la septième ou huitième semaine qu'un nodule dur, rond, plutôt plat, non adhérent à la peau, de 0 cent. 5 à 1 centimètre de diamètre. L'autre point d'injection restait toujours sans infiltration et le petit nodule, quand il existait, ne changeait pas de volume. *Nous n'avons pas observé d'abcès froid dans le groupe B.*

GROUPE C (TABLEAU III).

A la même date nous injectâmes à 6 nourrissons 0 milligr. 05 (2 cent. cubes) en une seule injection, dans le tissu sous-cutané à la hauteur de l'omoplate gauche. L'un (nouveau-né) fut retiré du service quatre jours après la vaccination. *Tous les autres réagirent à la tuberculine entre la troisième et la treizième semaine.* En comparant les tableaux II et III, on constate que l'apparition de l'allergie, chez les enfants qui avaient reçu 0 milligr. 05 en 2 injections, a lieu entre des dates extrêmes moins distantes que chez les enfants auxquels il n'a été fait pour la même dose qu'une seule injection. De plus, à dose égale, les réactions à la tuberculine étaient plus fortes chez les nourrissons ayant subi 2 injections. Par contre, les *réactions locales* étaient en général moins prononcées chez les vaccinés n'ayant reçu qu'une injection. Les infiltrations n'avaient qu'un diamètre de 1 à 2 centimètres, mais l'évolution de ces infiltrations se trouva être la même que dans le groupe précédent. Au bout de deux à trois mois, il ne restait qu'un nodule de 0,5 à 1 centimètre de diamètre. *Nous n'avons pas constaté d'abcès froid dans ce groupe.*

Nous décidâmes dès lors de n'employer dorénavant que le système des *deux injections simultanées*. En effet, nous obtenions ainsi, au bout de six semaines environ, l'allergie, ce qui nous donnait chez chaque enfant la certitude qu'il hébergeait des bacilles et nous possédions une indication précise pour la durée de l'isolement. Nous avons, à partir de ce moment, administré des doses de BCG variant entre 0 milligr. 025 et 0 milligr. 1 (concentration : 0 milligr. 025 par centimètre cube), mais toujours en deux injections sous-cutanées. Nous avons groupé

TABLEAU III. — *Groupe C* : Six nourrissons vaccinés au BCG-SC. Une injection de 0 milligr. 05.

NUMÉRO	AGE	DURÉE DE LA PÉRIODE PRÉALLERGIQUE EN SEMAINES												RÉACTIONS LOCALES
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
1	5 jours.	Repris du service quatre jours après la vaccination.												Pas d'abcès.
2	15 semaines.	C —	m +	C ? m +		C +					C ++			Infiltration (diamètre 2 centimètres), nodule (1 centimètre).
3	20 semaines.		C —	C — m —		C +			C +					Infiltration (diamètre 2 centimètres), nodule (0 cent. 5).
4	24 semaines.		C —	C — m —			C —		m —	C —		C +		Nodule (0 cent. 5).
5	30 semaines.	C —		C — m —		C —	C —		C +					Infiltration (diamètre 1 centimètre), nodule (0 cent. 5).
6	33 semaines.	C —		C — m —	C —		C —			m ++	C —		C +	Nodule (0 cent. 8).

C, cuti-réaction ; m, intradermo-réaction (0 milligr. 1 de tuberculine purifiée) ; ++, fortement positive ; +, positive ; —, douteuse ; —, négative.

les enfants en deux tableaux différents : *tableau IV*, 4 nouveau-nés ayant reçu un total de 0 milligr. 025 à 0 milligr. 03 et *tableau V*, 6 enfants vaccinés avec un total de 0 milligr. 075 à 0 milligr. 1.

GROUPE D (TABLEAU IV).

Dans ce groupe, 4 nouveau-nés vaccinés par deux injections sous-cutanées, un seul (n° 1) a pu être observé assez longtemps. Il s'agit du nouveau-né hérédosyphilitique qui a fait l'abcès froid mentionné plus haut. Cet enfant, vacciné par deux injections de 0 milligr. 0125 chacune, n'a réagi nettement à la tuberculine que vers la huitième semaine. Parmi les 3 autres nouveau-nés de ce groupe, l'enfant n° 2, vacciné de la même façon et avec la même dose, fut repris deux jours après la vaccination et c'est chez lui que nous avons constaté après sept mois la cicatrice provenant d'un abcès froid; abcès, comme nous l'avons vu plus haut, probablement dû au traumatisme de l'infiltration. Le n° 3, vacciné par deux injections, l'une de 0 milligr. 0175, l'autre de 0 milligr. 0125, fut retiré du service sept semaines plus tard; l'intradermo-réaction, faite avec 0 milligr. 1 de tuberculine purifiée, était douteuse à son départ. Quant au n° 4 vacciné par deux injections de 0 milligr. 015 chacune, il décéda à l'âge de six semaines à la suite d'une dyspepsie grave. Rien n'a pu être trouvé à l'autopsie qui pût être invoqué contre le BCG (inoculation au cobaye négative). Ce groupe d'enfants ne nous donna que très peu d'indications au sujet de l'allergie; mais, en le comparant aux groupes B et E, où tous les vaccinés réagissaient nettement à la tuberculine vers la sixième semaine, on pourrait peut-être en déduire que les doses de BCG employées dans le groupe D étaient faibles. En résumé, nous avons constaté dans ce groupe deux abcès froids, dus probablement, comme nous le disions plus haut, aux traumatismes répétés de l'infiltration sous-cutanée.

GROUPE E (TABLEAU V).

Ce groupe de 6 enfants comprenait 3 nouveau-nés et 3 enfants âgés de deux à trois ans et demi. Tous furent vaccinés avec des doses totales allant de 0 milligr. 075 à 0 milligr. 1

en deux injections sous-cutanées simultanées. Les 4 enfants de ce groupe que nous pûmes observer assez longtemps devinrent tous allergiques entre la quatrième et la sixième semaine. La réaction fut toujours nette et chez 3 des enfants, âgés de deux à trois ans et demi, elle fut très forte. Mais encore ici le n° 5, bien qu'il eût reçu une plus forte dose de BCG, réagissait plus faiblement que les 3 enfants plus âgés. Tous les enfants de ce groupe ont été revus six à sept mois après et, malgré les fortes doses employées, nous n'avons constaté aucun abcès froid.

A noter que les réactions locales étaient en partie différentes dans ce groupe. Aux enfants âgés de deux ans à trois ans et demi (n°s 2, 3, 4) nous avons injecté 0 milligr. 05 à la hauteur de l'omoplate gauche et 0 milligr. 025 à droite. L'infiltration, allant de 3 à 4 cent. 8 de diamètre, s'est toujours formée à gauche, c'est-à-dire à l'endroit qui avait reçu la dose la plus forte. Ces infiltrations ont eu l'évolution habituelle et vers huit à onze semaines il ne restait qu'un nodule de 1 à 2 centimètres de diamètre. Le côté ayant reçu la dose la plus faible n'a jamais réagi autrement que par un petit nodule de quelques millimètres de diamètre. Ces infiltrations n'étaient pas douloureuses. Aux 2 nouveau-nés, vaccinés par deux injections simultanées de 0 milligr. 05 (2 cent. cubes) chacune, nous avons fait une injection dans le tissu sous-cutané de la région de l'omoplate gauche et l'autre dans le tissu sous-cutané à la hauteur de la 7^e côte sous le mamelon droit. Le n° 5 présentait à chaque point d'injection, à son départ de la clinique infantile au bout de neuf semaines, une infiltration de volume sensiblement égal (environ 1 cent. 1/2 de diamètre) mais légèrement plus grosse en arrière. Nous avons revu l'enfant sept mois plus tard et n'avons plus retrouvé de traces de ces infiltrations aux points d'injections. La cuti-réaction est actuellement fortement positive, mais l'enfant est, depuis sa sortie de la clinique, en contact intermittent avec une tuberculose fermée. Le n° 6, qui avait quitté le service après quatorze jours, a présenté, d'après les parents, en arrière, une forte infiltration qui s'est lentement résorbée. Sept mois après, on sentait chez lui, à la palpation, un nodule de 1 centimètre de diamètre; rien en avant.

Des observations que nous avons pu faire sur ces 3,5 cas, il ressort nettement que l'abcès froid dans la vaccination par voie

TABLEAU V. — *Groupe E* : Six enfants vaccinés au BCG-SC. Deux injections simultanées.

NOMBRE	AGE	DOSES de vaccin en milligrammes	DURÉE DE LA PÉRIODE PRÉALLERGIQUE EN SEMAINES										RÉACTIONS LOCALES	
			2	3	4	5	6	7	8	→	27			
1	6 jours.	$\left. \begin{matrix} 0,0375 \\ 0,0375 \end{matrix} \right\}$	C —	Repris du service dix jours après la vaccination.										Revu après trois mois et demi. Nodule (diamètre 1 centimètre).
2	2 ans.	$\left. \begin{matrix} 0,05 \\ 0,025 \end{matrix} \right\}$	C —	C —	C — m —		C ++			→	C ++		Infiltration (diamètre 3 centimètres). Après régression, nodule (diamètre 1 centimètre).	
3	2 ans 1/2.	$\left. \begin{matrix} 0,05 \\ 0,025 \end{matrix} \right\}$	C —	C —	C — m +		C ++			→	C ++		Infiltration (diamètre 3 cent. 5). Après régression, nodule (1 cent. 5).	
4	3 ans 1/2.	$\left. \begin{matrix} 0,05 \\ 0,025 \end{matrix} \right\}$	C —	m —	m + C +		C ++			→	C ++		Infiltration (diamètre 4 cent. 8). Reste un nodule de 1 cent. 8 de diamètre.	
5	5 jours.	$\left. \begin{matrix} 0,05 \\ 0,05 \end{matrix} \right\}$			C —	C —	m +		C +				Deux infiltrations d'environ 1 cent. 5. Pas de traces après sept mois.	
6	10 jours.	$\left. \begin{matrix} 0,05 \\ 0,05 \end{matrix} \right\}$	C —	Repris quatorze jours après la vaccination.										Assez forte infiltration, nodule (diamètre 1 centimètre) après sept mois.

C, cuti réaction; m, intradermo réaction (0 milligr. 1 de tuberculine purifiée); + +, fortement positive; +, positive; —, négative.

C, cuti réaction; m, intradermo réaction (0 milligr. 1 de tuberculine purifiée); +, +, fortement positive; —, négative.

sous-cutanée avec des doses de 0 milligr. 025 à 0 milligr. 1 (1 à 4 cent. cubes de liquide) est une complication qui se présente assez rarement. *La méthode des deux injections simultanées semble, à doses égales, préférable à celle qui n'en implique qu'une seule.* Elle nous donne, au point de vue de l'allergie, des résultats plus nets et plus constants. Cette méthode permet d'obtenir, en général, avec une dose totale de 0 milligr. 05 de BCG (2 cent. cubes de liquide), une cuti-réaction positive dès la sixième semaine, et, comme nous l'avons déjà dit, elle indique une limite précise à l'isolement de chaque vacciné. Nous avons constaté que le nouveau-né réagit, en général, aux mêmes dates et avec la même dose de BCG, plus faiblement (aussi bien localement qu'au point de vue de l'allergie), que les enfants vaccinés à un âge plus avancé. En général, une allergie précoce et intense est la condition d'une réaction locale précoce et intense. La réaction locale, elle-même, diffère plus ou moins chez chaque vacciné; mais, dans la majorité des cas, plus la dose de bacilles injectée est élevée, plus la réaction locale est, à âge égal, précoce et forte.

On peut se demander si, plus tard, sous une influence quelconque, le nodule qui reste à la suite de l'infiltration ne finira pas par s'abcéder. Nous ne le croyons pas. Nous avons eu l'occasion de revoir après coqueluche deux enfants vaccinés au BCG par voie sous-cutanée. Chez ces enfants l'allergie, qui avait disparu pendant leur maladie, s'est de nouveau installée après et les nodules n'ont pas changé de dimensions malgré cette période d'anergie.

Depuis le 1^{er} novembre 1929, l'Institut Pasteur a modifié le titrage des émulsions du vaccin BCG destinées à l'usage sous-cutané. *Celles-ci ne contiennent plus actuellement que 0 milligr. 01 de BCG par cent. cube.* Or, postérieurement au 19 novembre, nous avons vacciné 5 nouveau-nés par voie sous-cutanée. Voici les résultats obtenus jusqu'à présent avec ces nouvelles émulsions.

GROUPE F (TABLEAU VI).

Ces 5 nouveau-nés reçoivent deux injections simultanées de 0 milligr. 01 (1 cent. cube de liquide) dans le tissu sous-cutané, à la hauteur des deux omoplates, donc 0 milligr. 02 en tout. Le

TABLEAU VI. — *Groupe F* : Cinq nouveau-nés vaccinés au BCG-SC.
Deux injections simultanées de 0 milligr. 01 (0 milligr. 02), Titrage 0 milligr. 01 par cent. cube.

NUMÉRO	ÂGE en jours	DURÉE DE LA PÉRIODE PRÉALLÉRGIQUE EN SEMAINES								RÉACTIONS LOCALES
		2	3	4	5	6	7	8	9	
1	6	—	—	—	m —	C —	M —	—	n — M +	Nodule (grain de poivre). Encore en observation au service.
2	5	—	—	C —	m ?	C ?	C —	C — m —	—	Décédé à la suite de broncho-pneumonie. Pas de réaction locale.
3	6	M —	—	M —	m —	m —	m — M —	—	—	Pas de réaction locale. Encore en observation au service.
4	6	M —	—	M —	m —	m —	m — M —	—	—	Pas de réaction locale. Reste en observation au service.
5	3	M —	m —	m —	m — M —	—	—	—	—	Pas de réaction locale. Reste en observation au service.

C, cuti-réaction; m, intradermo-réaction 0 milligr. 1 de tuberculine purifiée; M intradermo-réaction (1 milligramme de tuberculine purifiée); +, positive; ?, douteuse; —, négative.

n° 2 est décédé la neuvième semaine de broncho-pneumonie bilatérale aiguë sans avoir été allergique auparavant. L'autopsie n'a rien montré qui pût être invoqué contre le BCG. Le n° 5 ne réagit pas au bout de cinq semaines à une intradermo-réaction de 1 milligramme de tuberculine purifiée. Les trois autres vaccinés présentaient encore à la fin de la septième semaine une intradermo-réaction négative avec 1 milligramme de tuberculine. Le plus âgé réagit enfin à cette réaction après neuf semaines. Ce dernier est le seul enfant de ce groupe présentant une réaction locale. Elle ne consiste qu'en un nodule, à l'un des points d'injection, ayant à peine la dimension d'un grain de poivre. Ces enfants restent encore en observation.

La modification apportée, depuis le 1^{er} novembre 1929, par l'Institut Pasteur au titrage des émulsions de BCG-SC a été dictée par le souci d'éviter, autant qu'il est possible, la production d'abcès froids, malgré la parfaite innocuité de ceux-ci. Mais nous croyons qu'on eût pu se dispenser de l'effectuer, car l'allergie à la tuberculine sera sans doute plus irrégulière et plus tardive avec la concentration actuelle (0 milligr. 01 de BCG par centimètre cube). Nous estimons que l'ancien titrage (0 milligr. 025 par centimètre cube) était préférable, à condition de faire deux injections simultanées de 0 milligr. 025 chacune. Cette méthode produit régulièrement l'allergie vers la sixième semaine. Si l'on conserve le titrage actuel (0 milligr. 01 dans 1 cent. cube de liquide), nous conseillerons de faire deux injections sous-cutanées simultanées de 2 cent. cubes (0 milligr. 02) chacune, pour obtenir des résultats se rapprochant de ceux que nous ont fournis nos premiers essais avec l'ancienne concentration.

Combien de temps durera l'allergie ainsi obtenue? Il est difficile de le prévoir. Cette durée sera certainement variable chez chaque sujet. Nous avons pu conserver, isolés à la clinique, 4 enfants (n° 1 du groupe A, n°s 2, 3, 4 du groupe E) jusqu'à respectivement six et huit mois et demi après la vaccination. Tous les 4 réagissaient encore à leur départ à la cuti-réaction, — les 3 vaccinés avec 0 milligr. 075, même fortement — ce qui semble indiquer que l'allergie est assez durable. Dès que le sujet vacciné ne sera plus allergique, la revaccination devra être faite par la voie sous-cutanée, mais seulement à ce moment, sinon on s'exposerait à provoquer un abcès froid.

CONCLUSIONS.

1° Il y a lieu de vacciner les enfants au BCG par voie sous-cutanée. La méthode des deux injections simultanées donne de bons résultats. Pour chacune de ces deux injections, nous employons de préférence la dose de 0 milligr. 025 de BCG en émulsion homogène dans 1 cent. cube de liquide.

2° Il faut isoler rigoureusement les enfants des milieux tuberculeux, ou simplement des milieux suspects de tuberculose, jusqu'à l'apparition nette de l'allergie.

3° Il ne faut pas toucher à l'infiltration s'il s'en forme au niveau de l'un des points d'injection et surtout ne pas ponctionner trop hâtivement.

4° Il faut revacciner par voie sous-cutanée et dès que l'allergie disparaît, mais seulement alors.

BIBLIOGRAPHIE

- BUSCHMANN (H.), Contribution à l'étude de la vaccination antituberculeuse par le BCG. *Ces Annales*, n° 7, 1929, p. 838-856.
- CALMETTE (A.). *La vaccination préventive contre la tuberculose par le BCG.* Masson et Cie, 1927, p. 225.
- CHIARI (H.), NOBEL (E.) et SOLK (A.), Versuche mit dem BCG Stamm Calmettes. *Zeitschr. f. Tuberk.*, 50, 1928, p. 24-38.
- DEBRÉ et COFINO, Sur la sensibilité cutanée à la tuberculine chez les nourrissons ayant ingéré du vaccin BCG. *C. R. Soc. de Biol.*, n° 30, 1929, p. 513-516.
- GIROD et DEBARGE, A propos du vaccin BCG. Vérification anatomique chez un nourrisson vacciné. *Rev. Méd. Suisse rom.*, 47, 1927, p. 1011-1017.
- NOBEL (E.), Tuberkuloseimmunität und Schutzimpfung nach Calmette mit BCG. *Wien. Klin. Wochenschr.*, n° 23, 1928, p. 798-806.
- PIRQUET (C.), Stellungnahme zur Calmett'schen Impfung. *Wien. Med. Wochenschr.*, 1928, p. 727.
- PITTALUGA et GARCIA, Etude des variations leucocytaires chez les enfants vaccinés par le BCG. *Ces Annales*, n° 10, 1929, p. 1233-1267.
- ROHMER et CHAUSSINAND, Quatre cas de tuberculose évolutive aiguë vaccinés au BCG, mais restés en contact avec la source de contagion. *Bull. Soc. Méd. Hôp.*, n° 31, 1929, p. 1365-1367.
- WALLGREN (A.), Résultats de la vaccination intracutanée contre la tuberculose au moyen du BCG. *Ces Annales*, n° 6, 1929, p. 799-808.
- ZEYLAND et PIASECKA-ZEYLAND, Sur la pénétration des bacilles à travers la paroi du tube digestif d'après les autopsies des enfants vaccinés au BCG par voie buccale. *Ces Annales*, n° 12 bis, 1928, p. 61-66.

DU SYSTÈME NERVEUX DANS LES TUMEURS ARTIFICIELLES

par M. MARULLAZ.

III

Dans des articles antérieurs (1), j'ai montré que le système nerveux est toujours altéré dans la formation des tumeurs artificielles et j'ai pu donner l'observation d'un cas de véritable néoplasie cancéreuse avec métastases régionales, par le traitement d'une oreille de lapin au goudron de houille brut. Voici maintenant des constatations qui viennent confirmer cette opinion.

Le chlorure de magnésium a une action évidemment retardatrice sur la genèse des tumeurs au goudron (2). On voit que les oreilles des animaux préparés et traités avec cette substance sont beaucoup moins fréquemment porteuses de tumeurs malignes ou bénignes que celles des sujets qui n'ont jamais reçu de ce sel. Le goudron ne cause le plus souvent que l'hyperthrophie folliculaire du tégument, et dans les parties ainsi atteintes les nerfs présentent des caractères normaux après imprégnation au nitrate d'argent, tandis qu'ils sont moins bien teints et un peu irréguliers de forme dans celles qui sont porteuses de granulations papillomateuses. Par contre, on voit chez le lapin cage 31, porteur de tumeurs volumineuses à la pointe de l'oreille, que l'appareil nerveux est atteint, ses fibres et ses fibrilles sont tout à fait déformées et se colorent mal dans la masse néoplasique surtout. Il faut noter en outre dans ce cas que, à part le processus néoplasique de la pointe de l'oreille, il existe une hyperplasie manifeste des autres tissus connectif, périchondral et cartilagineux ; l'épaisseur de ces deux

(1) Ces *Annales*, décembre 1928, 42, p. 1573 et mai 1929, 43, p. 656.

(2) *Bullet. Acad. Méd.*, 102, n° 27, 16 juillet 1929.

derniers va en diminuant progressivement de la pointe de l'oreille, siège de la tumeur, à la base.

A côté de ce cas, on peut en ranger un autre, L. cage 33, où la production néoplasique s'est incomplètement développée malgré un traitement prolongé de onze mois; chez lui on n'arrive que difficilement à mettre les nerfs en évidence; toutefois on constate que les éléments de cet appareil se teignent très mal à l'argent tout en conservant leur calibre normal, dans les parties épaissies de l'oreille gauche, c'est-à-dire atteintes d'hypertrophie folliculaire, et que dans le voisinage immédiat d'un papillome de la pointe de l'oreille droite les faisceaux nerveux se colorent normalement et leurs cylindres-axes conservent leur aspect fin et régulier.

Le lapin cage 27 présente des altérations fort démonstratives. N'ayant été soumis que quatre-vingt-un jours au badigeonnage du tiers supérieur de la face externe de chaque oreille, il n'offre que des lésions à leur début, encore qu'on ait pu constater, au cinquante-huitième jour déjà, l'apparition d'une petite tumeur arrondie à surface lisse, en territoire non goudronné, à 2 centimètres du bord inférieur de la zone traitée de l'oreille droite et reposant directement sur une expansion du cordon neuro-vasculaire médian. Au microscope, on est frappé par l'état des nerfs. Tandis que ceux de la face interne non goudronnée ont un aspect en tous points normal, ceux de la zone badigeonnée sont de dimensions irrégulières, plutôt agrandies, et se teignent inégalement dans les régions restées normales anatomiquement; dans les parties atteintes d'un début de prolifération néoplasique, l'anomalie des fibrilles nerveuses est encore plus accentuée; en certains endroits elles se teignent si peu à l'argent qu'il est très difficile de les reconnaître.

Dans le but de me rendre compte si par l'emploi d'une substance à action nettement neurotrope on peut agir sur les éléments nerveux des oreilles goudronnées des lapins, je me suis adressé à deux poisons caractérisés de cet appareil, l'atropine et la pilocarpine.

L'atropine employée simultanément avec le goudron est impuissante à provoquer la formation de tumeurs à la base des oreilles badigeonnées à leur pointe, alors que la pilocarpine, dont les propriétés antagonistes de l'atropine sont bien connues,

a permis dans 2 cas sur 3 d'obtenir des néoplasies vraies de la base de l'oreille à une distance bien plus grande que celle où l'on peut rencontrer des métastases (1).

L'examen microscopique démontre que les productions néoplasiques ainsi obtenues sont semblables à celles du goudron, et que les altérations nerveuses qu'on y observe sont également les mêmes. Et dans la zone badigeonnée autour de la tumeur



FIG. 1. — Lapin 24, Cage 12. Oreille droite. Goudronnage du tiers supérieur face interne, badigeonnage à la pilocarpine du quart inférieur face externe. (Photo Jeantet du 19 février 1929.)

les cordons nerveux ne sont pour ainsi dire plus visibles après traitement à l'argent, soit selon le procédé de Bielschowski, soit d'après celui de London.

En reprenant les observations mentionnées dans cet article

(1) L'animal badigeonné hebdomadairement à la pointe de l'oreille, selon la méthode habituelle, était chaque jour frictionné pendant trois à quatre minutes avec une solution de pilocarpine 0,2 dans eau et glycérine à 10, sur tout le pourtour de la base de l'oreille, qui était épilé une fois par semaine.

et les précédents, on ne peut refuser de constater la constance des altérations de l'appareil nerveux dans les productions néoplasiques bénignes ou malignes que l'on obtient avec le goudron; d'autre part, nous avons vu que les oreilles des lapins



FIG. 2. — Lapin 77, Cage 25. Oreille droite, face externe.
(Photo Jeantet du 7 novembre 1929.)

restées sans tumeurs malgré le badigeonnage usuel, ce qui s'observe chez des animaux traités au chlorure de magnésium, conservent l'intégrité des nerfs de leur tégument. Les altérations de l'appareil nerveux sont toujours les mêmes dans tous les cas, les fibrilles se teintent mal ou même pas du tout après imprégnation à l'argent, leur calibre est irrégulier, souvent agrandi, et on les retrouve exactement pareilles dans les tumeurs qui se sont développées à distance de tout goudron-

nage, soit en territoire normal, soit dans une région traitée par une autre substance telle que la pilocarpine.

Le siège des tumeurs n'est pas toujours facile à préciser si l'on examine les productions des parties badigeonnées. On peut constater néanmoins dans quelques cas qu'elles reposent directement sur une des branches du plexus neuro-vasculaire de la face externe de l'oreille. Mais si l'on s'adresse aux productions que l'on rencontre en territoire non goudronné, il est aisé de se rendre compte le plus souvent que ces néoplasies siègent *directement* sur un de ces cordons. On le voit nettement lorsque l'on assiste au développement d'une néoformation sur le trajet du cordon médian.

Il semble qu'un des sièges d'élection de ces productions se trouve au sommet de l'angle de bifurcation de la branche moyenne de la veine auriculaire postérieure. Au début, on note l'apparition d'une granulation épidermique qui augmente de volume assez rapidement en ayant l'apparence de faire corps avec la paroi vasculaire, dont elle est pourtant tout à fait indépendante ainsi que le démontre sa mobilisation. Son développement poursuit son rythme régulier jusqu'à atteindre la dimension d'un gros grain de blé.

A ce moment, la néoplasie se présente comme un papillome plus ou moins frangé, et on a l'impression d'un temps d'arrêt dans son évolution.

Au bout de quinze à vingt jours, le processus néoplasique reprend son allure antérieure, et la tumeur arrive quelquefois en s'étalant à recouvrir et masquer la fourche veineuse dont elle semblait émerger. On ne voit jamais ces néoplasmes, pas plus que ceux qui siègent en d'autres points de la zone non badigeonnée, prendre une allure franchement envahissante (1). Arrivées à une certaine taille leur volume reste stationnaire, et très exceptionnellement on constate leur régression et même leur disparition; sur une centaine de productions hors goudronnage je n'ai pu noter leur disparition que dans 2 ou 3 cas.

Dans un précédent article (2), on a vu que ces formations hors badigeonnage se présentent comme de véritables méta-

(1) Voir figure 5, ces *Annales*, décembre 1928, 42, p. 1573.

(2) Ces *Annales*, 43, mai 1929, p. 656.

stases d'un cancer vrai, fait qui frappe particulièrement lorsqu'on a affaire à des néoplasies qui se développent d'abord dans l'épaisseur de l'oreille, et non au-dessus de la couche épidermique ainsi que c'est plus souvent le cas lorsqu'il s'agit de formes papillomateuses.

Outre ces formations nettement néoplasiques dans leur aspect extérieur et dans leur structure et dont on peut dire souvent qu'elles siègent directement sur le trajet d'un nerf, de nombreux cas à tumeurs bien développées présentent également, en territoire non goudronné, des placards de prolifération épithéliale, qui ont un aspect tout autre que ceux d'hypertrophie folliculaire, plus ou moins épais, à surface irrégulière, fréquemment papillomateuse, d'étendue très variable, et qui sont les équivalents de ce que l'on appelle « crasse sénile ».

Le plus souvent alors, le revêtement épidermique de la face externe de l'oreille devient sec, rugueux, squameux, perd sa souplesse naturelle; quelquefois on peut noter de la desquamation vraie, et même une chute partielle des poils; ces phénomènes sont le plus marqués dans la partie centrale de la face externe de l'oreille, le long de la branche neuro-vasculaire médiane.

Un cas très démonstratif de cet état de choses est le lapin 34. Il est porteur de tumeurs à l'extrémité de chaque oreille, et a été soumis à un traitement au chlorure de magnésium pour voir si, par cette substance, il est possible de modifier l'évolution de la néoplasie. L'oreille *gauche*, badigeonnée à la pointe de sa face externe, porte dans la région goudronnée de nombreuses petites tumeurs souvent confluentes, papillomateuses, entourées d'un épiderme atteint d'hypertrophie folliculaire, et qui sous l'influence du traitement se sont un peu flétries et desséchées, en prenant un aspect semblable à celui des néoplasmes après neurectomie. Dans la partie non badigeonnée, l'épiderme a un aspect presque normal, c'est à peine si l'on peut y retrouver trace des altérations sus-mentionnées.

Par contre, l'oreille *droite* offre un tableau complètement différent. Badigeonnée aussi, à la pointe de sa face externe, il s'est formé un conglomérat de tumeurs qui ont pris une allure maligne et mutilante et détruit l'organe dans sa partie supérieure. Un mois après le début du traitement au chlo-

rure de magnésium, l'évolution de la néoplasie a paru se ralentir; mais après quelques jours elle a repris son rythme du début. Le processus néoformatif a conduit à la production d'un bourrelet irrégulier dans son épaisseur et qui, à sa surface, laisse suinter un liquide séro-purulent très fétide. La partie de la face externe qui n'est pas encore touchée par la néoplasie, et qui n'a *jamaïs* reçu de goudron, est parsemée de nombreux placards de crasse sénile, de grandeur variable, et irrégulièrement disséminés, entourés eux-mêmes d'un tégument desséché, rugueux, squameux, avec tendance à l'épilation. Les plus marquées de ces altérations se voient dans la zone centrale de l'oreille, c'est-à-dire à proximité du cordon neuro-vasculaire médian.

L'oreille *gauche*, dont les lésions paraissent être en veilleuse, a donc un tégument presque normal; elle n'offre aucune anomalie à la palpation et son appareil vasculaire semble intact au toucher et à l'examen par transparence, tandis que l'oreille *droite*, dont le processus néoplasique est en pleine activité, présente toutes les altérations épithéliales dont il a été question, et en outre se trouve épaissie, chaude à la palpation, et son réseau vasculaire, faisant saillie sur la peau, paraît notablement dilaté.

Il est encore un point qui mérite l'attention. Lorsqu'on entreprend le goudronnage d'une oreille de lapin, on est frappé de l'exagération de la sensibilité qui se manifeste souvent dès les premières séances, à partir du moment que le tégument se dessèche et commence à être le siège d'une hypertrophie folliculaire, et que le goudron lui adhère complètement. Cette manifestation est plus constante que je ne l'ai indiqué précédemment. On peut dire qu'on la retrouve chez chacun des lapins à tumeurs en voie d'évolution; ils s'agitent ou se débattent vigoureusement au moindre attouchement d'un point toujours le même et qui est le siège d'une néoplasie, qu'il s'agisse du contact simple d'un objet tel qu'une pincette, ou de celui d'un ingrédient chimique comme le xylol destiné à ramollir les croûtes. On a déjà vu que dans quelques cas plutôt rares la peau badigeonnée devient humide par places et que les parties dont l'épiderme est ainsi macéré ne présentent pas de réaction spéciale à la palpation, alors qu'à la siccité du tégument correspond toujours une sensibilité anormale et exagérée à la provo-

cation, mais aussi spontanément, car les animaux qui en sont atteints prennent soin de leurs oreilles, qu'ils caressent et peignent à toute occasion. A ces manifestations de sensibilité correspondent souvent des altérations des nerfs rappelant celles que Masson a décrites à propos de l'appendicite chronique.

A part cette réaction douloureuse plus ou moins vive, l'appli-



[FIG. 3. — Lapin 77, Cage 34. Oreille droite, face externe.
(Photo Jeantet du 16 octobre 1929.)

cation du goudron provoque dès le début des manifestations d'irritation neuro-vasculaire. En quelques heures on peut voir une oreille traitée se cyanoser, s'œdématiser; les cordons neuro-vasculaires de la face externe deviennent saillants et on perçoit facilement les pulsations des canaux artériels.

L'action du goudron n'est donc pas uniquement locale, mais a aussi son retentissement à distance; les manifestations neuro-vasculaires du début en sont le témoignage. En la faisant s'exercer d'une manière suffisamment prolongée on provoque deux résultats : premièrement, action locale correspondant

selon toute vraisemblance à une modification simplement fonctionnelle de l'appareil nerveux, représentée par la seule hypertrophie folliculaire du tégument; secondement, une altération anatomique réelle de certaines fibres et fibrilles, qui aboutit à la formation de papillomes devenant malins lorsque, à la suite de la mise hors fonction totale des éléments nerveux par leur altération anatomique, la prolifération des divers tissus échappe à tout contrôle biologique normal et aboutit à la constitution d'un néoplasme; l'élément « épithélium » étant le plus actif à se multiplier, c'est lui qui confère aux néoplasies leur caractère dominant, et en fait des épithéliomes, bien que dans certains cas on constate aussi l'hyperplasie des autres tissus, comme par exemple on l'a vu à propos du lapin cage 31.

Ainsi on s'explique pourquoi sous le badigeonnage d'une partie de l'oreille on voit se développer tout d'abord de l'hypertrophie folliculaire et ce n'est que peu à peu qu'apparaissent l'une après l'autre les tumeurs qui peuvent fort bien finir par se substituer entièrement au tégument simplement épaissi.

L'effet du goudron se prolongeant sur le système nerveux auriculaire par la répétition des badigeonnages, on voit la peau devenir sèche, rugueuse, écailleuse, dans la partie moyenne de la face externe de l'oreille; on peut pour ainsi dire toujours observer ce phénomène, qui est le premier et le moins grave de ceux qui se produisent hors du goudron, et qui n'est pas obligatoirement suivi de formation de crasse sénile, papillome, etc.; puis on discerne sur le tégument l'apparition d'épaississements irréguliers, qui peuvent former des placards plus ou moins confluent, à surface rugueuse, voire frangée. A côté de ces productions il peut y avoir de vrais papillomes, ils sont en général peu nombreux, ils se forment parfois sans avoir été précédés par une série très développée des modifications épidermiques qui viennent d'être énumérées, et c'est surtout le cas des néoformations dont on peut discerner l'implantation directe sur un trajet neuro-vasculaire, comme celles qui siègent à la bifurcation du cordon médian.

L'examen anatomique de ces territoires situés hors goudronnage donne un résultat analogue à celui des parties badigeonnées, les éléments nerveux se teignent mal par l'argent dans les parties touchées par les altérations épidermiques qui

précèdent l'apparition des papillomes; dans ces néoplasies, l'intégrité des fibrilles aussi bien que leur colorabilité est atteinte; les tissus ainsi néoformés sont placés dans les mêmes conditions que dans la zone goudronnée, et la prolifération anarchique cellulaire se trouve déclenchée, conduisant à la formation de tumeurs en tous points comparables à celles qui naissent sous le badigeon.

Ce mécanisme fait comprendre pour quelle raison on obtient des néoplasmes plus facilement à la face interne qu'à la face externe de l'oreille, la face interne n'étant innervée que par les extrémités des nerfs de la face externe, qui s'y épanouissent après avoir traversé le cartilage.

De même on comprend pourquoi il est relativement facile de provoquer la formation de tumeurs sur une oreille de lapin, dont l'innervation est terminale, alors qu'on n'en obtient qu'exceptionnellement en d'autres parties du corps.

La suppression de la fonction biologique régulatrice des éléments nerveux par leur altération anatomique conduit à la néoplasie maligne qui est caractérisée par l'anarchie cellulaire. Le noyau de prolifération se développe, s'agrandit, désorganise, comprime et détruit les tissus normaux de la portion de l'oreille où il siège, ce qui lui permet de s'étendre jusqu'à ce qu'il vienne au contact de parties dont l'appareil nerveux reste doué de ses propriétés fonctionnelles trophiques qui maintiennent une vitalité normale dans le territoire qu'ils régissent, et l'on se trouve quelquefois en présence d'une oreille trouée, d'un orifice dont les bords ont une structure normale tout en présentant des modifications dues à l'inflammation chronique de réaction à la lésion anatomique qu'elles encerclaient.

Comme on le sait depuis longtemps, le noyau épithélial néoformé ne possède ni vascularisation, ni innervation propres; il est donc fatalement voué à la destruction. Si plusieurs d'entre eux se sont développés à proximité l'un de l'autre, ils finissent par se toucher, par confluer et envahir les tissus normaux de la pointe de l'oreille, qu'ils transforment en une masse entièrement néoplasique; puis, se nécrosant et en tombant ultérieurement, ils finissent par mutiler l'organe sur une étendue plus ou moins grande. Le processus de destruction s'arrête au contact des tissus qui ont conservé une innervation normale, mais qui.

on le conçoit facilement, présenteront tous les signes d'une inflammation réactionnelle.

La même évolution s'observe chez les tumeurs vraies de la zone non goudronnée, ce qui fait comprendre pourquoi après leur disparition on se trouve en face d'une perte de substance, qui finit par se combler dans les cas où son peu d'étendue permet que, en proliférant, ses bords finissent par se rencontrer.

Ce processus de mutilation qui est conforme à ce que nous savons des épithéliomes, s'arrêtant au contact des tissus ayant conservé une vitalité normale, peut en imposer pour une guérison spontanée au premier abord, ce qui n'est pourtant pas le cas, puisque les parties où siègeait la néoplasie sont irrémédiablement détruites; tandis qu'on peut observer le retour à l'état normal, c'est-à-dire la guérison du tégument atteint d'ichthyose et hyperplasie épithéliales, après la suppression du goudronnage, dont l'action sur l'appareil nerveux est démontrée par la diminution ou la disparition de sa colorabilité à l'argent.

Dans des cas exceptionnels, des papillomes cornés, situés en zone non badigeonnée, peuvent disparaître lentement sans que l'on puisse parler d'un changement de méthode quelconque dans le traitement de l'animal. On a affaire vraisemblablement alors à des éléments nerveux dont la perturbation fonctionnelle, cause de la néoplasie, cesse sans raison apparente, permettant ainsi un retour lent et progressif à la normale. Les altérations anatomiques et les néoplasies que l'on peut observer loin de tout goudronnage ne sont donc pas des métastases de la même nature que celles que l'on voit se développer chez les porteurs de tumeurs spontanées et qui reconnaissent pour origine un ensemencement cellulaire par voie lymphatique le plus souvent. Mais elles constituent bien plutôt des métastases vraies, résultant de la production à distance du principe morbifique générateur des néoplasmes que l'on obtient avec le goudron.

En considérant que les altérations du tégument et ses néoplasies dépendent de l'action du goudron sur les éléments nerveux, on est amené à expliquer le mécanisme de leur production de la manière suivante. Par le badigeonnage on applique du goudron sur une partie déterminée de la pointe de l'oreille qui, le plus fréquemment, est atteinte au bout de peu de temps

d'hypertrophie folliculaire que l'on peut considérer comme une réaction directe de l'épiderme au goudronnage, dont les propriétés kératoplastiques sont connues depuis longtemps. Mais, simultanément avec ce phénomène, le goudron — qui est plus ou moins actif suivant sa composition — agit sur les fibrilles nerveuses, dont la colorabilité à l'argent s'atténue. Cette action



FIG. 4. — Lapin 71, Cage 20. Oreille droite, face externe.
(Photo Jeantet du 29 novembre 1929.)

sur les éléments nerveux se prolongeant, la myéline s'altère elle aussi, et il devient de plus en plus difficile de faire apparaître les cylindres-axes, principalement dans les parties goudronnées, mais aussi dans la zone voisine non badigeonnée. C'est alors qu'on assiste à la formation de papillomes et que se manifeste l'ichthyose des parties non traitées de la face externe. Depuis les premières séances de traitement, on a pu noter une réaction neuro-vasculaire qui s'apaise assez rapidement pour ne se reproduire qu'à la manipulation. A mesure qu'elle s'atténue,

la sensibilité s'accroît, en certains points nettement déterminés, et peut devenir très vive.

En continuant le goudronnage, les éléments nerveux restent soumis à son influence qui se traduit par l'altération anatomique des extrémités de certaines fibrilles; et celles-ci une fois hors de fonctionnement, les portions du tégument de leur dépendance échappent à tout contrôle neurotrophique et se développent en pleine anarchie; c'est alors que les tumeurs bénignes deviennent malignes.

J'ai pu observer quelques animaux dont la vitalité était nettement diminuée à ce moment; ils ont traversé une période de trois à cinq jours, durant laquelle ils sont restés somnolents et sans appétit, le poil hérissé; après quoi ils ont retrouvé leur bonne santé coutumière avec l'apparition des néoplasies, qui se sont développées assez rapidement comparativement aux autres.

L'action cancérogène du goudron ne paraît pas s'exercer à grande distance du foyer de son application, car il ne se développe pas de tumeur en territoire non badigeonné n'appartenant pas à l'oreille; on remarque bien l'existence de productions cornées bénignes sur la peau du cou, mais elles siègent toujours sur une partie du tégument souillée par le goudron encore liquide, ou soumise au contact du badigeon sec de cet organe. Aucune constatation anatomique ne permet de parler d'une répercussion du goudronnage sur le mécanisme biologique régulateur de la division cellulaire, dans son ensemble.

Cette « intoxication » des nerfs n'est pas générale dans l'organe traité, ou du moins tous les nerfs n'en sont pas affectés en même temps; c'est pour cela qu'une tumeur maligne dont l'origine est due à ces lésions nerveuses peut grossir, évoluer, écarter sans les envahir les portions normales qui l'encerclent et où l'on ne retrouve aucune trace d'une action quelconque du goudron sur les nerfs, et disparaître à la suite de sa nécrose inévitable si elle est uniquement épithéliale. A sa place on ne trouve plus qu'une perte de substance entourée de tissus de constitution normale, plus ou moins atteints d'inflammation chronique.

En même temps que la prolongation du goudronnage altère définitivement l'extrémité de certaines fibrilles, elle main-

tient l'ensemble de l'appareil nerveux dans un état qui cause des troubles fonctionnels et nutritifs de plus en plus marqués, l'ichthyose du tégument s'accroît, souvent elle s'accompagne d'épilation diffuse ou par plaques rappelant l'« *alopecia areata* », il se forme des placards irréguliers d'épiderme épaissi ressemblant parfois à des papillomes aplatis,



FIG. 5. — Lapin 77, Cage 14. Oreille droite, face externe.
(Photo Jeantet du 16 octobre 1929.)

même à des formations de *cornu cutaneum* intermédiaires entre la tumeur franchement bénigne et l'épithéliome malin.

On se représente aisément l'aspect que peut prendre l'oreille, si elle porte plusieurs néoplasmes évoluant malignement, et finissant par confluer. La perte de substance qui résulte de la destruction finale est plus ou moins grande; dans certains cas c'est l'extrémité entière de l'oreille qui tombe.

A côté de l'action locale du goudron qui se traduit par de

l'hypertrophie folliculaire du revêtement épithélial, l'effet du badigeonnage s'exerce sur tout l'appareil nerveux de l'oreille jusqu'à une certaine distance. On a vu qu'avec le chlorure de magnésium la résistance de l'appareil nerveux est augmentée ou réveillée, la preuve est donnée par le retard manifeste de l'apparition des productions néoplasiques alors que l'hypertrophie folliculaire sous le badigeon était caractérisée. D'autre part certaines substances comme la pilocarpine — son antagoniste l'atropine est absolument inefficace — stimulent la néoplasie comme on le voit en l'appliquant loin de tout badigeonnage sur une partie d'une oreille dont l'appareil nerveux a été préalablement « sensibilisé » par le goudron.

Et il peut arriver que chez un animal traité pendant longtemps sans succès la néoplasie débute plusieurs mois après la suspension de toute manipulation, ce qui ferait admettre la mise hors fonction de certains éléments nerveux dont la résistance a fini par succomber aux suites d'une « sensibilisation » antérieure prolongée (1).

Cet exposé permet d'établir un rapprochement avec les conclusions de Weiss (2) et de Schotte (3) qui admettent l'action de l'appareil nerveux dans la régénération des extrémités d'amphibies après leur amputation, en conditionnant ce processus par un « tonus d'évolution » (*Gestaltungstonus*) exercé par le sympathique.

(1) Ces *Annales*, 42, décembre 1928, p. 1573, voir figure 2 et figure 4.

(2) WEISS *Zsch. f. mikr. Anat. u. Ent. Mechanik Roux*, 104, n° 3-4, 1925.

(3) SCHOTTE. *C. R. des Séances de la Soc. de phys. et hist. natur.*, Genève, 39, 1922; 40, 1923.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU *BACTERIUM PARATYPHIS ABORTUS EQUI*

par B. M. GURVITCH.

(Laboratoire de bactériologie vétérinaire
de l'arrondissement militaire du Caucase-du Nord.)

I. — Historique de la question.

Smith et Kilborn [1], les premiers, obtinrent en 1893 une culture du microbe qui détermine l'avortement des juments; ils étudièrent ses qualités morphologiques et culturelles, constatèrent sa ressemblance avec le *B. suispestifer* et le classèrent dans le groupe du *hagcholéra* ou des *salmonella*.

Les investigations de Turner [1] (1894), de Lignières [2] (1897), de Jong [2] (1912), de Lautenbach [1] (1913), de Stadler [2], de van Heelsbergen [3] ont confirmé les résultats de Smith et de Kilborn dans l'essentiel, en classant le microbe de l'avortement des juments, d'après ses caractères morphologiques et cultureux, dans le groupe *paratyphi-enteritidis*.

Sauf Jaunterbaux [3] qui pense que le *B. ab. equi* appartient au type *B. Paratyphi* « A », ceux qui ont étudié la question après lui, tels que Meyer et Börmer, Miessner et Berge, Gminder, ont démontré que le bacille qui provoque l'avortement infectieux chez les juments doit être considéré comme faisant partie du groupe *paratyphi* « B » et ils lui ont donné le nom de *Bact. paratyphis abortus equi*.

Parmi les travaux récemment publiés, il faut mentionner celui de Lehr [6] qui croit que le *B. ab. equi* est très près du *B. paratyphique* « B » Schottmüller. Il fonde son opinion sur ce fait que le sérum des animaux immunisés contre le *B. paratyphique* Schottmüller agglutine l'émulsion du *B. ab. equi* à un titre assez élevé, tandis que le taux d'agglutination du *B. paratyph. Schottmüller* vis-à-vis du sérum du *B. par. ab. equi* est faible ou nul.

Le sérum des animaux immunisés contre le *Bac. enter.* Breslau agglutine aussi le *B. par. ab. equi* à un titre assez élevé. Cependant Lehr pense que le *B. ab. equi* se distingue du *Bac. Schottmüller*, non seulement par les particularités de son appareil récepteur, mais encore par le fait que le premier forme une membrane à la surface du bouillon de viande peptonisé et fait apparaître l'eau de condensation dans les cultures sur agar.

Pfeiler [7] signale lui aussi cette membrane, ainsi que l'aspect ridé des colonies du *B. ab. equi* sur gélose. Lütje [8] note la présence de stries dans les bourrelets muqueux, l'absence du phénomène de glissement sur la gélatine et la sécheresse de la culture sur bouillon gélosé peptoné. Panisset et Verge [9] classent le *B. ab. equi* dans le groupe de « *Salmonella* » d'après ses caractères sérologiques, et ils pensent que le phénomène de Smith et le tableau de Besson le font rapprocher du *B. enteritidis* (Breslau) ou du *B. d'Aertrycke*. Lomry et Gillet [10] classent aussi le *B. ab. equi* dans le sous-groupe *Aertrycke*. Fujimura, Toyoschina, Saenaga [11] estiment que ses qualités biologiques et sérologiques permettent de le différencier d'avec les *B. parat.* *Schottmüller*, *B. enteritidis* et *Bac. typhi murium*.

Olitzi [12] a fait l'étude d'une semence et est arrivé à la conclusion qu'elle ne répond ni par ses caractères sérologiques ou de culture, ni par ses propriétés pathogènes, au *B. Schottmüller* ou au *B. ent.* Breslau. Selon notre opinion le travail de Kafai, Kohanawa, Oguza et Ito offre le plus grand intérêt. Ces auteurs, ayant étudié les propriétés biochimiques de quelques souches du *B. ab. equi* vis-à-vis de 29 espèces d'hydrates de carbone, distinguent 4 variétés de ce bacille. Les mêmes investigateurs ont en outre démontré qu'il est possible de changer les variétés formant des stries en variétés qui n'en forment point et, *vice versa*, sans utiliser la méthode de Knorr et de Braun [14].

Les travaux de Bitter [1], Lütje [8], Maninger [1], Frenkel [1], Miessner et Baars [15] ont enfin démontré que le *B. ab. equi* apparaît tout à fait indépendant dans le groupe des *Salmonella* en raison de ses caractères de culture et de ses réactions sérologiques. En se fondant sur ces derniers travaux faits selon la méthode de l'isolement des variétés spécifiques, non spécifiques et mixtes, Aoki [23] n'est pas encore parvenu à isoler le *B. ab. equi* comme espèce indépendante.

Ce bref aperçu bibliographique montre que le *B. ab. equi* est l'objet d'études approfondies de la part de nombreux auteurs. Les souches russes de ce microbe ne sont connues jusqu'à présent que par le travail de Poliakow [16], continué par Bekensky [17], mais leurs caractères sérologiques n'ont pas été précisés. Il faut rappeler aussi les recherches de Radzivillovsky [19] et de Belikoff [18] relatives à des souches de *B. ab. equi* fraîchement isolées par eux, et que ces auteurs considèrent comme appartenant au groupe *paratyphi* « B »; celles de Patzevitch, Turandin et Zwetkow [20] (rapport au premier Congrès des Microbiologistes russes, 1928), et l'article de Bunina et Korjinskaja [21] qui ont étudié le *B. ab. equi* selon les principes de l'école de Kiel.

II. — Recherches personnelles.

Des 113 souches de *B. ab. equi* que nous avons isolées, nous avons pu en étudier seulement 80. Celles-ci furent obtenues en cultures pures du sang et du contenu gastrique de fœtus, produits d'avortements de juments d'un haras situé dans le district de Salsk, dans le Caucase du Nord. Seules furent examinées les souches qui provenaient de la première, de la seconde, ou rarement de la troisième génération à partir de leur isolement.

MORPHOLOGIE.

Le *B. parat. ab. equi* présente les caractères ci-après : Gram négatif, non acido-résistant, polymorphe, bouts arrondis, aspect d'un coccus ou d'un fil étiré; longueur de $0\ \mu\ 5$, $3\ \mu\ 2$, largeur de $0\ \mu\ 5$, $0\ \mu\ 7$; colorabilité bipolaire, même dans les vieilles cultures. Prend toutes les couleurs d'aniline. Dans les vieilles cultures on observe très souvent des petits filaments longs de $10-12\ \mu$, tantôt droits, tantôt recourbés. Les bacilles sont très mobiles dans les cultures jeunes (vingt, vingt-quatre heures), examinées en goutte pendante; cette mobilité est plus ou moins grande suivant l'âge des éléments et elle disparaît à la longue. On ne trouve ni capsules ni spores.

CARACTÈRES DE CULTURE.

Dans les vingt-quatre premières heures, le bouillon de viande peptoné présente un trouble homogène avec une faible sédimentation. En secouant le tube, ce sédiment trouble le milieu d'une façon uniforme. Une membrane superficielle se forme du deuxième au dixième jour, mais celle-ci est inconstante. 35 souches sur 80 n'en produisaient pas. Aucune ne liquéfie la gélatine après ensemencement par piqûre. Ni le lait ordinaire, ni le lait tournesolé ne sont altérés en général. Seules les souches n^{os} 36, 1119 et 146 ont coagulé le lait avec coloration jaunâtre. Le milieu de Drigalsky-Conradi n'est pas modifié. Le bacille s'y développe sous forme de colonies isolées ou bien en pellicule. Il pousse dans la gélose de Lieberman et de Acel en légère peau jaune-brun sans altérer ce milieu, ni celui d'Endo. Aucune des souches n'a permis d'observer le phénomène de Fischer (descente, glissement) sur la gélatine ni la formation de colonies-filles sur la gélose à 1 p. 100 de raffinose (d'après Müller).

BOUILLON GÉLOSÉ-PEPTONÉ. — D'après l'aspect des colonies et le caractère du développement dans ce milieu, les 80 souches étudiées peuvent être réparties en deux groupes. Le premier contient 49 souches : les colonies y sont d'abord diaphanes et grisâtres, légèrement opalescentes, puis elles perdent graduellement leur transparence ; le second ou le troisième jour, un bourrelet muqueux commence à se former tout autour lorsque la culture reste à la température de la chambre ; les bords de ce bourrelet deviennent peu à peu irréguliers, des anfractuosités s'y forment. Les dimensions des colonies deviennent plus grandes et leur périmètre atteint 6-7 millimètres ; la surface s'aplatit, sauf le centre qui reste proéminent, et la périphérie s'entoure de cercles concentriques. Les colonies adhèrent fortement au milieu et ne se laissent enlever qu'en entier ou par gros fragments. Les colonies compactes de ce groupe (culture en gazon) ont une surface rude, sèche, inégale, membraneuse ; elles pénètrent peu à peu dans le milieu sous-jacent. Celles de quelques souches (par exemple n^{os} 101 et 111) adhèrent fortement à la surface de l'agar. On n'arrive qu'avec peine à en

préparer une suspension homogène en eau physiologique.

Le second groupe contient 31 souches. Les colonies de celles-ci se distinguent des colonies du premier groupe par ce qu'elles ne forment pas de bourrelet. D'après leur aspect on peut distinguer deux sous-groupes : les colonies de l'un sont surélevées, lisses, humides, elles n'adhèrent pas au milieu et se laissent facilement enlever de sa surface; on peut en préparer des émulsions homogènes dans l'eau physiologique. Les colonies du second sous-groupe sont plates, sèches, elles adhèrent assez fortement à la surface de la gélose, se rident et ne s'émulsionnent que très difficilement.

VITALITÉ ET RÉSISTANCE.

Toutes les souches de *B. ab. equi* poussent bien entre 25 et 40° en milieu faiblement acide ou faiblement alcalin, mais les conditions optima sont pour elles un $P_h = 7.2$ à 7.4 . Elles peuvent vivre sur bouillon gélosé pendant un laps de temps dépassant six mois, si la gélose n'est pas desséchée.

Le *B. ab. equi* est immédiatement tué par l'ébullition. Certaines souches ne perdent leur vitalité qu'après une heure et demie de chauffage au bain-marie à 70°, d'autres la perdent après quinze minutes à cette température. Le chauffage à 62° les tue entre une heure et demie à trois heures. Le permanganate de potassium à 2 p. 100 les fait périr en quinze minutes; le formol à 0,5 p. 100 en quinze minutes; le formol à 0,1 p. 100 seulement après dix-sept heures. L'acide phénique à 0,5-1 p. 100 les laisse intactes après une heure. Avec 2 p. 100 elles périssent en cinq minutes. Le sublimé les tue en une minute à 0,02 p. 100, en cinq minutes à 0,01 p. 100 et en trente minutes à 0,002 p. 100.

PROPRIÉTÉS BIOCHIMIQUES.

Sur gélose de Burnet et Weissenbach, aucune des souches ne produit d'hydrogène sulfuré (gélose au plomb). 32 souches font de l'indol (examen le cinquième jour de culture); 48 n'en forment pas. Aucune ne produit de gaz dans le bouillon peptoné lactosé; en présence de glucose presque toutes donnent des gaz.

Vis-à-vis des hydrates de carbone des milieux de Barsikoff et

de Tiel, la plupart des souches se comportent d'après le schéma suivant (excepté quelques souches indiquées séparément) :

Milieu de Barsikoff avec lactose * (1).	0
Milieu de Barsikoff avec mannite	R, G
Milieu de Barsikoff avec glucose.	R, G
Milieu de Barsikoff avec maltose.	R, G
Milieu de Tiel avec maltose	0
Milieu de Tiel avec glucose	R, G, C
Milieu de Tiel avec mannite	R, G, C
Milieu de Tiel avec raffinose *	0
Milieu de Tiel avec dulcité.	R, G
Milieu de Tiel avec maltose	R, G
Milieu de Tiel avec mannose.	R, G, C
Milieu de Tiel avec sorbite	R, G
Milieu de Tiel avec dextrine *	0
Milieu de Tiel avec lévulose.	R, G, C
Milieu de Tiel avec glycérine.	R
Milieu de Tiel avec saccharose *	0
Milieu de Tiel avec galactose	R, G, C

Avec le glucose, les souches n^{os} 29, 30 et 80 ne donnent pas de gaz.

Pas d'acide avec le maltose avec les n^{os} 33 et 34

Pas de gaz avec la mannose chez les n^{os} 30 et 80.

Pas de gaz avec la sorbite avec les n^{os} 30 et 82.

Pas de gaz avec le lévulose avec le n^o 30.

Pas de gaz avec la mannite ni avec le galactose pour les n^{os} 30 et 80.

Avec l'arabinose, seulement 46 souches donnent des gaz et de l'acide. Sur les 34 souches restantes, 17 ne forment ni gaz, ni acide. Les autres ne déterminent pas la formation de gaz.

PROPRIÉTÉS PATHOGÈNES.

Le nombre restreint d'animaux d'expériences dont nous disposions n'a pas permis d'étudier les propriétés pathogènes de chaque souche; c'est pourquoi nous avons dû, le plus souvent, nous servir d'un mélange de plusieurs cultures (de 2 à 9) en bouillon. C'étaient des cultures de deuxième génération, de vingt-quatre heures, isolées depuis deux à cinq jours de fœtus avortés.

16 cobayes furent inoculés sous la peau, dans le péritoine et

(1) L'astérisque indique les hydrates de carbone vis-à-vis desquels toutes les souches sans exception se comportent comme le montre le schéma. A = acide; G = gaz; C = coagulation.

per os. Les effets pathogènes du *B. ab. equi* se sont manifestés avec 2 cent. cubes par voie sous-cutanée, 0,5 par voie intrapéritonéale. Chez un cobaye femelle en gestation, infecté *per os* (animaux en gestation), nous obtînmes aussi un résultat positif.

20 rats blancs furent infectés et la culture de vingt-quatre heures en bouillon se montra pathogène à la dose de 2 cent. cubes sous la peau, de 0 c. c. 01 dans le péritoine.

Sur 11 lapins, 6 inoculés avec 0 c. c. 5 à 3 cent. cubes dans les veines ont succombé, 1 qui reçut 3 cent. cubes dans le péritoine est mort également, tandis que les autres, avec 1 et 5 cent. cubes dans la cavité péritonéale ou 5 à 10 cent. cubes sous la peau, ont résisté.

7 souris blanches ont été infectées *per os* en un à quatre repas : 5 souris moururent après des laps de temps divers : de vingt-sept heures à douze jours.

Presque toujours nous avons retrouvé dans le sang des animaux le *B. ab. equi* avec les mêmes caractères de culture, biochimiques et sérologiques, que celui qui avait été utilisé pour l'expérience.

CARACTÈRES SÉROLOGIQUES.

Nous avons fait l'épreuve de l'agglutinabilité sur les 80 souches, vis-à-vis du sérum d'une jument (« Gora ») expérimentalement infectée avec une culture du *B. ab. equi* et ayant avorté (titre du sérum pour la réaction d'agglutination = 1 : 40.000). Nous avons aussi employé des sérums de lapins hyperimmunisés avec une souche (titre avec la souche n° 39 = 1 : 25.000). Les épreuves faites avec ces sérums et avec une émulsion de chacune des 80 souches (séparément) montrèrent la haute agglutinabilité de toutes les souches à un titre presque identique, avec variations de 25 p. 100 dans l'un ou l'autre sens.

Nous avons fait ensuite l'épreuve de saturation de Castellani, en saturant le sérum de « Gora » avec la souche n° 28 (à colonies humides et lisses) et les sérums immuns de lapins avec une souche homologue n° 39 (à colonies avec bourrelet). La réaction d'agglutination faite avec les deux sérums épuisés n'a fourni, avec l'émulsion de chacune des 80 souches, aucun résultat positif, même au titre de 1 : 100.

L'identité sérologique de toutes les souches, en dépit des

quelques différences de caractères cultureux et biochimiques, était ainsi démontrée.

Restait à savoir quel est l'appareil récepteur des principales de nos souches : a) celles en saillie, ridées; b) les lisses, sèches; c) les lisses et humides, en précisant leurs rapports avec les colonies types du groupe des paratyphiques. Dans ce but, nous avons choisi les n^{os} 28, 39, 86, 47 et 128 de nos souches du *B. ab. equi* (le n^o 28 était une variété lisse et humide; le n^o 47 lisse et sec; les n^{os} 86, 39 et 128 en saillie, ridées). Les tableaux I, II, III, IV et V indiquent les résultats de nos examens croisés.

TABLEAU I. — Réactions d'agglutination avec les sérums anti et le sérum de « Gora » vis-à-vis de diverses émulsions du groupe de paratyphus.

ÉMULSIONS DES SOUCHES	SÉRUM ANTI <i>B. ab. equi</i>				SÉRUM de « Gora » (1 : 40 000)
	N ^o 28 (1 : 20.000)	N ^o 128 (1 : 8.000)	N ^o 39 (1 : 25.000)	N ^o 47 (1 : 20.000)	
<i>B. ab. equi</i> n ^o 28	20 000	8.000	20.000	12 000	40.000
<i>B. ab. equi</i> n ^o 39	15.000	8.000	25.000	15.000	40.000
<i>B. ab. equi</i> n ^o 86	0.000	12.000	25.000	2.000	45.000
<i>B. ab. equi</i> n ^o 47	20.000	8.000	25.000	20.000	40.000
<i>B. ab. equi</i> n ^o 128	15.000	8.000	25.000	25.000	30.000
<i>B. enteritidis</i> Breslau	1.000	600	1.400	100	1.500
<i>B. Schottmüller</i> n ^o 9	2.000	800	1.200	100	1.200
<i>B. suis estifer</i>	200	200	500	100	1.000
<i>B. enteritidis</i> Gärtner	100 ±	0(1)	100	0	0
<i>B. typhi. abd.</i>	0	300	200	0	400
<i>B. typhi. murium</i>	0	0	150	0	100
<i>B. Danysz.</i>	0	0	0	0	100

(1) 0 signifie résultat négatif, même avec une dilution du sérum à 1/100.

TABLEAU II.

ÉMULSION DES SOUCHES	SÉRUM ANTI			
	<i>B. Schottmüller</i> n ^o 9 (1 : 15.000)	<i>B. Schottmüller</i> n ^o 16 (1 : 12.000)	<i>B. enteritidis</i> Breslau (1 : 15.000)	<i>B. suispestifer</i> (1 : 15.000)
<i>B. ab. equi</i> , n ^o 28	7.000	1.000	6.000	250
<i>B. ab. equi</i> , n ^o 47	5.000	1.000	3.000	»
<i>B. ab. equi</i> , n ^o 86	7.000	1.000	6.000	»
<i>B. ab. equi</i> , n ^o 39	4.000	500	4.000	350
<i>B. ab. equi</i> , n ^o 28	7.000	1.500	6.000	»

TABLEAU III.

ÉMULSIONS DES SOUCHES	TITRE agglutinant jusqu'à la saturation	SÉRUM DE LA JUMENT « GORA » saturé des souches			
		B. <i>ab. equi</i> n° 28	B. <i>enteritidis</i> Breslau	B. <i>suipestifer</i>	B. Schottmüller n° 9
<i>B. ab. equi</i> , n° 28	40.000	0	20.000	30.000	40.000
<i>B. ab. equi</i> , n° 47	40.000	0	30.000	32.000	32.000
<i>B. enteritidis</i> Breslau	1.500	0	0	200 ±	400
<i>B. par. Schottmüller</i>	1.200	0	400	0	400
<i>B. suipestifer</i>	1.000	0	100 ±	100	0

TABLEAU IV.

ÉMULSION DES SOUCHES	TITRE agglutinant jusqu'à la saturation	SÉRUM ANTI <i>B. ab. equi</i> , n° 28 saturé des souches		
		B. <i>ab. equi</i> n° 28	B. <i>enteritidis</i> Breslau	B. Schottmüller n° 9
<i>B. ab. equi</i> , n° 28	20.000	0	3.000	4.000
<i>B. ab. equi</i> , n° 47	20.000	0	3.000	4.000
<i>B. ab. equi</i> , n° 86	20.000	0	4.000	4.000
<i>B. ab. equi</i> , n° 128	15.000	0	4.000	4.000
<i>B. enteritidis</i> Breslau	1.000	0	0	0
B. Schottmüller, n° 9	1.200	0	100	0

TABLEAU V.

ÉMULSION DES SOUCHES	SÉRUM ANTI <i>B. Schottmüller</i> , n° 9 saturé des souches				SÉRUM ANTI <i>B. enteritidis</i> Breslau saturé des souches			
	B. Schottmüller n° 9	<i>B. enteritidis</i> Breslau	<i>B. ab. equi</i> n° 28	<i>B. ab. equi</i> n° 128	B. Schottmüller n° 9	<i>B. enteritidis</i> Breslau	<i>B. ab. equi</i> n° 28	<i>B. ab. equi</i> n° 128
	Titre agglutinant jusqu'à la saturation par B. Schottmüller (1 : 15.000)				Titre agglutinant jusqu'à la saturation par <i>B. enteritidis</i> Breslau (1 : 15.000)			
<i>B. par. Schottmüller</i>	0	5.000	9.000	8.000	0	0	5.000	5.000
<i>B. enteritidis</i> Breslau	0	0	800	800	8.000	0	8.000	8.000
<i>B. ab. equi</i> , n° 28	0	200	0	0	0	0	0	0
<i>B. ab. equi</i> , n° 128	0	200	0	0	0	0	0	0

Ces résultats d'agglutination croisée montrent que nos souches de *B. ab. equi* donnent une réaction de groupe avec quelques représentants du groupe paratyphique, surtout avec *B. « B »* Schottmüller, *B. enteritidis* Breslau et *B. suipestifer*.

Il nous restait à étudier la réaction de Castellani. Les résultats en sont indiqués dans les tableaux III, IV et V.

Les chiffres qui précèdent prouvent que nos souches de *B. ab. equi* ne peuvent figurer dans aucun groupe parce qu'elles diffèrent de tous ceux que nous avons étudiés. Par conséquent elles se rapportent à des types indépendants.

Nous croyons donc pouvoir tirer de nos recherches les conclusions suivantes :

Conclusions.

1° Le *B. par. ab. equi* appartient, d'après ses caractères morphologiques, cultureux, biochimiques et sérologiques, au groupe des « Salmonella ».

2° Du point de vue de l'école de Kiel, le *B. ab. equi* diffère du *B. paratyph.* Schottmüller et du *B. enteritidis* Breslau. Si la plupart de ses souches donnent des colonies avec bourrelet (ce qui pourrait le rapprocher du *B. paratyph.* Schottmüller), l'absence du phénomène de glissement sur la gélatine et de formation de colonies-filles sur la gélose au raffinose, ainsi que ses propriétés pathogènes pour les souris blanches, le rapprochent du *B. enteritidis* Breslau.

3° Le *B. ab. equi* se présente sous trois variétés qui se distinguent par leurs caractères de culture (culture sur bouillon gélosé peptoné) : l'une donne des colonies en saillie, ridées ; la seconde des colonies lisses et humides ; la troisième des colonies lisses et sèches.

4° Le pouvoir fermentatif vis-à-vis des divers sucres est variable. Certaines souches font fermenter l'arabinose et le maltose ; il en est qui donnent des gaz et d'autres qui n'en donnent pas dans les milieux glucosés, mannités, sorbités, lévulosés et galactosés.

5° *B. par. ab. equi* est pathogène pour les petits animaux de laboratoire : lapins, cobayes, souris et rats blancs. Il est carac-

térisé par une haute résistance vis-à-vis des divers agents physiques et chimiques.

6° Au point de vue sérologique, toutes les souches sont égales et possèdent une haute agglutinabilité.

7° Le *B. ab. equi* a des récepteurs communs à beaucoup de représentants du groupe de paratyphiques, mais surtout au *B. Schottm.*, au *B. enter.* Breslau et au *B. suipestifer* et, parmi ceux-ci, aux deux premiers.

8° En raison des résultats de l'agglutination croisée et de l'épreuve de Castellani, le *B. ab. equi* ne peut être identifié à aucun des représentants du groupe des paratyphiques.

9° Ces faits et aussi les caractères de culture du *B. ab. equi* ne permettent pas de le considérer comme apparenté au *B. paratyph.* Schottm. (selon la détermination de l'école de Kiel), ni au *B. enteritidis* Breslau, bien que ces deux organismes aient les mêmes récepteurs que le *B. ab. equi*. L'opinion de Bitter, Miessner et Lütke, qui considèrent ce bacille comme formant une espèce indépendante, se trouve donc confirmée.

LITTÉRATURE

- [1] Cité d'après Miessner, v. 7 et 15.
- [2] Cité d'après Lütje.
- [3] Cité d'après Poshychewski. *Archives des Sciences vétér.*, n° 1, 1915, p. 71 (en russe).
- [4] *Berl. T. W.*, n° 42, 1922, p. 482.
- [5] *Zeitsch. f. Infkr. u. s. w.*, 1924, p. 26.
- [6] *Zbl. f. B. I.*, Orig., 107, nos 1-3.
- [7] *Ber. T. W.*, n° 23, 1917, p. 264. *Zbl. f. B. I.*, Orig., 97, 1926, p. 322.
- [8] *Tierheilk. u. Tierzucht. Eine Enzyklopaed. d. prakt. Nutztier.* L. I. Bd. I., DTW, 1924, p. 142; 1925, p. 327.
- [9] *Rev. gén. de Méd. vét.*, 1926, p. 129; *Ces Annales*, n° 6, 1927.
- [10] *Ces Annales*, n° 6, 1927.
- [11] Cit. *B. de l'Inst. Past.*, n° 1, 1927.
- [12] *Zbl. f. B. I.*, Abt., Orig., 88, p. 438.
- [13] DTW., n° 1, 1928, p. 7.
- [14] *Zbl. f. B. I.*, Abt. Orig., 105, nos 4-5, p. 173.
- [15] *Zbl. f. Bakt. I.*, Abt. Orig., 97, p. 242; DTW., 1927, p. 212.
- [16] Travaux du I^{er} Congrès des Vétérin. Russes, 1903.
- [17] *Archives des sciences vétér.*, 1915, 3 (en russe).
- [18] Travaux de la première Conférence Scientif. des Vétér., 1926; *Vestnik Sovr. Vétér.*, n° 4, 1928.
- [19] *Praktitscheskaja Vétér. i Kon.*, n° 10, 1927.

- [20] Rapport de la première Conférence des Microbiologistes Russes, 1928.
- [21] *Journal mikrobiologii, pathol. et inf. bole*, 5, 4 (en russe).
- [22] *Praktitscheskaja Vétérinaria*, n° 11, 1928; n°s 1 et 2, 1929 (en russe); *Sew. Kawkas. Westn. Vétér. i Jiwont.* n° 9, 1929.
- [23] *Zbl. f. B. I., Orig.*, 104, p. 45.
- [24] Good et DLMOCK d'après les *Bull. de l'Inst. Past.*, n°s 14 et 16, 1927.
- [25] SCHILLING et BLECKER. *Bull. de l'Inst. Past.*, n° 13, 1927.
- [26] Haupt Raschke-Technik d. spez. Diag. und Therap. der Haustierseuchen, 1925.
- [27] Klimmer-Seuchenlehre d. landw. Nutztiere, 1925.
- [28] STUTZER. *Vratschebnaja Gazeta*, n° 15, 1928 (en russe).
- [29] OSTROWSKAJA. *Journ. Mikrobiol. pathol. i inf. bol.* 5, n° 2 (en russe).
- [30] *Ostertag. Handb. pathol Mikroorg.* 6, 1928.

INFORMATION

I^{ER} CONGRÈS INTERNATIONAL DE MICROBIOLOGIE

Paris, 20-25 Juillet 1930

Président d'honneur : M. le Docteur ROUX.

Président : M. le Professeur BORDET.

Le premier Congrès International de Microbiologie, organisé par la Société Internationale de Microbiologie, se tiendra à Paris, à l'Institut Pasteur et au Palais des Congrès, du 20 au 25 juillet 1930.

PROGRAMME

I. — RAPPORTS

Les rapporteurs dont les noms sont en italique ont déjà accepté; les autres n'ont pas encore fait connaître leur acceptation.

PREMIÈRE SECTION : MICROBIOLOGIE MÉDICALE ET VÉTÉRINAIRE

1. Variabilité microbienne; phénomènes lytiques. Rapporteurs : MM. *J. Bordet, d'Hérelle, Ledingham* et *Arkwright, Max Neisser*.

2. Scarlatine (étiologie, prophylaxie, thérapeutique). Rapporteurs : MM. *Cantacuzène, Debré, Dick, Dochez, Friedemann, Teissier, Zlatogoroff, A. Wadsworth*.

3. Éléments filtrables des virus neurotropes (épidémiologie, thérapeutique). Rapporteurs : MM. *Doerr, Rivers, Levaditi, Netter*.

4. Fièvre ondulante et avortement épizootique. Rapporteurs : MM. *Kling, Rinjard, Th. Smith, G. Vernoni*.

5. Pathogénie du choléra. Rapporteurs : MM. *Kitashima, Sanarelli*.

6. Grippe (étiologie). Rapporteur : M. *R. Pfeiffer*.

DEUXIÈME SECTION : SÉROLOGIE ET IMMUNITÉ

1. Lipoides dans l'immunité. Rapporteurs : MM. *Belfanti, Sachs*.
2. Culture des tissus. Rapporteurs : MM. *Canti, Carrel, Fischer, Warburg*.
3. Groupes sanguins. Rapporteurs : MM. *Hirszfeld, Landsteiner, Lattès*.

TROISIÈME SECTION : BOTANIQUE ET PARASITOLOGIE

1. Immunité chez les plantes. Rapporteur : M. *Carbone*.
2. Spirochétose ictérohémorragique (Maladie de Weil) et Spirochètoses d'origine hydrique. Rapporteurs : MM. *INADA, Uhlenhuth*.
3. Spirochètoses sanguines (tiques et poux). Rapporteur : M. *Ch. Nicolle*.
4. Bartonelloses et infections sanguines des animaux splénectomisés. Rapporteur : M. *Martin Mayer*.

II. — CONFÉRENCES ET DÉMONSTRATIONS AU LABORATOIRE

Conférence sur un sujet d'épidémiologie : M. S. *FLEXNER*.

Conférence : Analyse microbiologique du sol : M. *WINOGRADSKY*.

Conférence : Syphilis expérimentale et immunité : M. *Kolle*.

Tuberculose et vaccination antituberculeuse : M. *Calmette* et ses collaborateurs.

Floculation des sérums thérapeutiques. Vaccination anti-diptérique : MM. *Ramon, Park*.

Démonstrations de bactériologie : MM. *G. Volpino, Wright*.

Bactériologie médicale : MM. *H. Vincent* (Collège de France), *Sacquépée* (Val-de-Grâce).

Conférences et démonstrations de bactériologie médicale : M. *Le-mierre* et ses collaborateurs (Faculté de Médecine).

Biologie : M. *Fauré-Frémiet* (Collège de France).

Culture des tissus et des tumeurs : MM. *Borrel, Canti, Fisher*.

Fièvre jaune : MM. *Aragao, HINDLE, HUDSON, Marchoux, Pettit*.

Culture des protozoaires et physiologie des protozoaires en culture pure : M. *Mesnil* et ses collaborateurs.

Bilharziose, culture de trypanosomes, d'amibes et d'helminthes. Mycologie : M. *Brumpt* et ses collaborateurs (Faculté de Médecine).

Immunité et allergie dans les helminthiases : M. *Fülleborn*.

III. — COMMISSIONS

Une Commission s'occupera spécialement des questions de nomenclature; une autre de la rédaction définitive des statuts de la Société Internationale de Microbiologie.

IV. — COMMUNICATIONS

Les congressistes pourront présenter des communications aux conditions suivantes :

- a) Elles devront se rapporter à l'un des sujets des rapports.
- b) Elles seront rédigées dans l'une des cinq langues suivantes : allemand, anglais, espagnol, français, italien.
- c) Elles ne comprendront aucun historique, mais seulement le résumé des recherches personnelles de l'auteur.
- d) Un même congressiste ne pourra présenter plus de deux communications. Des communications collectives pourront être faites si l'un des auteurs est présent.
- e) Chaque auteur de communication devra adresser au secrétariat du Congrès(1) avant le 1^{er} juin 1930 le *titre* et un résumé de sa communication. Ce résumé, d'une étendue de 10 à 15 lignes, est destiné à la Presse.
- f) Le temps fixé pour chaque communication sera de 10 minutes.
- g) Les auteurs devront mentionner si les communications seront accompagnées de projections ou de films cinématographiques. Les clichés de projection devront être de format $8,5 \times 10$ et le film de la dimension « standard » (dans le cas contraire, s'entendre directement avec le secrétariat).

V. — HORAIRE

Dimanche 20 juillet, le secrétariat du Congrès sera ouvert au *Palais des Congrès* (Palais des Expositions, Porte de Versailles, Paris), de 14 heures à 18 heures. MM. les Congressistes sont instamment priés d'y

(1) M. R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE, Institut Pasteur, 26, rue Dutot, Paris (XV^e).

passer pour retirer les papiers qui les concernent (particulièrement un programme du Congrès portant la liste complète des rapports, conférences, démonstrations, communications, visites, etc.).

Lundi, à 9 heures : Ouverture du Congrès. Allocutions. Visite au tombeau de Pasteur.

Lundi, à 14 heures : Rapports et communications.

Mardi, mercredi, jeudi et vendredi : 1° de 9 heures à 12 heures : Démonstrations pratiques au Laboratoire (Institut Pasteur, Faculté de Médecine, Faculté de Pharmacie, Faculté des Sciences, École d'Alfort, Collège de France, École d'Anthropologie); 2° de 14 heures à 19 heures : Rapports, Communications, Discussion.

Samedi : Excursion.

Un programme spécial (visite des musées, des monuments de Paris, etc.) pour les dames des congressistes sera organisé.

VI. — INSCRIPTIONS

Les personnes qui désirent prendre part au Congrès devront, quelle que soit leur nationalité, adresser directement leur demande et le montant de leur cotisation (100 fr. français) au trésorier du Congrès : **M. Georges Masson, éditeur, 120, boulevard Saint-Germain, Paris (VI^e).** Compte postal n° 599; télégr. : Gemas-Paris-25.

Les demandes d'inscription seront reçues jusqu'au 15 juin 1930.

Il n'est pas nécessaire, pour s'inscrire, de faire partie de la **Société Internationale de Microbiologie**.

VII. — VOYAGE ET LOGEMENT

L'Agence Thos, Cook et Son, en coopération avec la **Compagnie Internationale des Wagons-Lits**, 2, place de la Madeleine, à Paris (ainsi que ses représentants en tous pays), se charge de fournir tous renseignements et devis concernant le déplacement à Paris des Congressistes et de leur fournir les billets de parcours, de leur réserver les chambres dans le genre d'hôtel choisi, etc.

La Compagnie Nord-Atlantique a bien voulu accorder une remise de 20 p. 100 sur le prix de traversée pour toutes ses lignes de navigation. Les chemins de fer français ont accordé une réduction de 50 p. 100 aux congressistes. S'adresser aux bureaux de l'Agence Cook.

Une excursion à Versailles et à la Malmaison ou la Vallée de Chevreuse est organisée; le prix en est de 90 francs tous frais compris. Un banquet par souscription, au prix de 65 francs, aura lieu à la fin du Congrès. MM. les Congressistes qui désirent assister soit à l'excursion, soit au banquet, soit aux deux, peuvent adresser les sommes correspondantes au Trésorier en même temps que le prix de leur inscription au Congrès. Les dames sont admises. L'inscription au banquet ou à l'excursion est facultative.

Le Secrétariat du Palais des Congrès ne fonctionnera qu'à partir du 20 juillet 1930. Jusqu'à cette date, s'adresser soit au Secrétariat général, soit directement (en s'inscrivant) à M. GEORGES MASSON, Trésorier.

Secrétariat général. — Pour les pays de langues latine et slave : R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE, Institut Pasteur, Paris (XV*); pour les pays de langue allemande : Professeur GILDEMEISTER, Reichsgesundheitsamte, Berlin (Dahlem); pour les pays de langue anglaise : Dr HARRY PLOTZ, Institut Pasteur, Paris.

Pays ayant déjà adhéré à la Société Internationale de Microbiologie et où existent des Comités nationaux : Allemagne, Amérique du Nord, Angleterre, Argentine, Autriche, Belgique, Brésil, Bulgarie, Danemark, Espagne, France, Grèce, Hollande, Hongrie, Italie, Japon, Pologne, Norvège, Portugal, Roumanie, Suède, Suisse, Tchéco-Slovaquie, U. R. S. S., Yougo-Slavie.

EXPOSITION

Une exposition concernant tous objets se rapportant au Laboratoire (instruments, livres, optique, matières colorantes, sérums, etc.) est organisée, à l'occasion du Congrès, sous le patronage du Comité français des Expositions et sous la présidence de M. le Président, M. JEAN FAURE. Elle se tiendra au Palais des Congrès (Palais des Expositions, Porte de Versailles, Paris), du 20 au 26 juillet 1930. Pour tout ce qui concerne cette exposition s'adresser au COMITÉ FRANÇAIS DES EXPOSITIONS, 22, avenue Emmanuel-III, Paris (8*). Téléph. : Élysées 49-83. Télégr. : Comitexpo-Paris. Compte de chèques postaux n° 222.40.

Le Gérant : G. MASSON.

